



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
Posgrado en Ciencias Químicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA APLICADA
Doctorado en Electroquímica Ciencia y Tecnología

***Síntesis y caracterización de ferrita de níquel y su aplicación
como material de electrodo***

TESIS EN COTUTELA
Que para aspirar al grado de
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

Presenta:

M.C. I. Q María del Rosario Galindo González

Directores de Tesis:

Dra. Silvia Gutierrez Granados
Universidad de Guanajuato

Dra. Pilar Herrasti González
Universidad Autónoma de Madrid

Marzo de 2013

En un bosque se bifurcaron dos caminos y yo...
Yo tomé el menos transitado.
Esto marcó toda la diferencia.

Robert Frost

A mi familia por su infinito amor y paciencia

Gracias de corazón:

A Pilar Herrasti por todo el esfuerzo puesto para el desarrollo de este trabajo, por ese entusiasmo y alegría que se contagia, por su paciencia pero sobre todo por el gran apoyo que me has brindado durante todo este tiempo y que va más allá de lo profesional.

A la Dra. Silvia Gutiérrez por invitarme a subir en este barco en el que he hecho posible cosas que nunca imagine.

A las Dras. Puerto Morales y Nieves Menéndez por sus valiosas aportaciones y el afecto que me brindaron durante la estancia en Madrid.

A cada uno de los revisores de este trabajo por sus comentarios siempre encaminados al mejoramiento de mismo y a mi desarrollo personal.

A Eva Mazario por todas sus enseñanzas, pero sobre todo por su paciencia, alegría y amistad.

A todos y cada uno de mis amigos (mexicanos, españoles, colombianos, brasileños, peruanos, italianos y franceses) por que cada uno, en diferente forma y momento, han sido piezas claves en toda esta aventura.

Y por último, pero no por ello menos importante al gran motor de mi vida, sin el cual nada es posible. Gracias Señor.

Agradezco el apoyo económico otorgado por:

El consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT a través de la beca número 223987 y el fondo de Becas Mixtas en la convocatoria de 2011.

A la Universidad de Guanajuato a través de las becas para la Formación de Jóvenes Investigadores.

Al Ministerio de Ciencia e Innovación de España y el Banco Santander-UAM en el proyecto MAT 2009_14741_C02_02, from the

Al ministerio de Educación Español para las estancias breves en el extranjero para el Personal Investigador en Formación.

Agradecimiento a las siguientes instituciones:

Universidad de Guanajuato (México)

Universidad Autónoma de Madrid (España)

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica

Universidad Autónoma Metropolitana (México)

Universidad Complutense de Madrid (España)

Instituto Europeo de Membranas (Francia)

ÍNDICE

ÍNDICE

Tema	Página
Resumen	i
Chapter 1. Introduction	1
1.1 Kinds of magnetic materials	1
1.2 Ferritas	4
1.2.1 Synthesis of ferrites nanoparticles	6
1.2.2 Ferrites applications	8
1.3 Nickel ferrites	10
1.3.1 Nickel ferrites applications	16
1.4 Chapter references.	19
Justificación del estudio	28
Objetivos	29
Capitulo 2. Técnicas experimentales	30
TÉCNICAS DE SÍNTESIS DE FERRITAS DE NÍQUEL	30
2.1 Síntesis por co-precipitación	30
2.1.1 Desarrollo experimental para la síntesis por coprecipitación	31
2.2 Síntesis por sonoquímica	32
2.2.1 Desarrollo experimental para la síntesis por sonoquímica	32
2.3 Síntesis electroquímica	35
2.3.1 Desarrollo experimental para la síntesis electroquímica	36
2.5 Síntesis por sonoelectroquímica	38
2.4.1 Desarrollo experimental para la síntesis sono-electroquímica	40
TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS	41
2.5.1 Difracción de Rayos X (XRD)	42
2.5.1.1 Fundamento teórico	42

2.5.1.2 Equipo y preparación de la muestra	45
2.5.2 Espectroscopia de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	46
2.5.2.1 Fundamento teórico	46
2.5.2.2 Equipo y preparación de la muestra	47
2.5.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	48
2.5.3.1 Fundamento teórico	48
2.5.3.2 Equipo y preparación de la muestra	49
2.5.4 Espectroscopia Infrarroja (IR)	50
2.5.4.1 Fundamento teórico	50
2.5.4.2 Equipo y preparación de la muestra	50
2.5.5 Espectroscopia Mössbauer	51
2.5.5.1 Fundamento teórico	51
2.5.5.2 Equipo y preparación de la muestra	52
2.5.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)	52
2.5.6.1 Fundamento teórico	52
2.5.6.2 Equipo y preparación de la muestra	54
2.5.7 Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS)	54
2.5.7.1 Fundamento teórico	55
2.5.7.2 Equipo y preparación de la muestra	56
2.5.8 Curvas de magnetización	56
2.5.8.2 Equipo y preparación de la muestra	57
2.5.9 Propiedades coloidales.	58

2.5.9.1 Potencial Z. Fundamento teórico.	58
2.5.9.2 <i>Equipo y preparación de la muestra</i>	59
2.5.9.3 Radio hidrodinámico. Fundamento teórico.	60
2.5.9.4 <i>Equipo y preparación de la muestra</i>	60
2.6 Referencias del capítulo	61
Capítulo 3. Caracterización de la ferrita de níquel	64
3.1 Difracción de rayos X.	64
3.2 Resultados técnica ICP-MS	70
3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	71
3.4 Espectroscopía Infrarrojo (FTIR)	76
3.5 Espectrometría Mössbauer	78
3.6 Análisis termogravimétrico (TGA)	80
3.7 Análisis XPS	84
3.8 Propiedades magnéticas	86
3.9 Propiedades coloidales	91
3.10 Conclusiones parciales	93
3.11 Referencias del capítulo	95
Capítulo 4. Sensores con base ferrita de níquel	97
4.1 Generalidades	97
4.2 Sensores bioquímicos	98
4.3 Desarrollo experimenta	102
4.3.1 Preparación del sensor amperométrico de glucosa y metanol.	102

4.3.2 Medidas electroquímicas	105
4.3.3 Voltametría cíclica	105
4.3.4 Cronamperometría	106
4.4 Resultados	107
4.4.1 Oxidación de glucosa	107
4.4.2 Sensor amperométrico para detección de glucosa	112
4.4.3 Sensor enzimático para la detección de glucosa	118
4.4.4 Resultados oxidación de metanol	121
4.4.5 Sensor para detección de metanol	125
4.5 Conclusiones parciales	128
4.6 Referencias del capítulo	129
Capítulo 5. Celda de combustible	132
5.1. Celda de combustible	132
5.2. Celda de combustible convencional	138
5.2.1 Parte experimental	138
5.3. Resultados	139
5.4 Celda de microfluídos	142
5.4.1 Parte experimental	143
5.4.2 Resultados celda de microfluídos	145
5.4.2.1 Caracterización del material del ánodo (maghemita comercial)	145
5.4.2.2 Comportamiento electroquímico de la maghemita en glucosa.	148
5.5 Conclusiones parciales	157

5. 6 Referencias del capítulo	158
Conclusiones	162
Anexo	163
Trabajo a futuro	184
Publicaciones derivadas de esta tesis	

Índice de figuras

	Página
Figure 1. Magnetism phenomenon present in magnetic materials.	3
Figure 2. Ferrite structure.	5
Figura 2.1. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel por co-precipitación	31
Figura 2.2 Diagrama de bloques de las etapas de la síntesis de NiFe_2O_4 por coprecipitación.	32
Figura 2.3. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel vía sono-química a 60 °C y 1040 kHz de frecuencia de ultrasonido.	34
Figura 2.4. Diagrama de bloques de la síntesis de ferrita de níquel vía sonoquímica.	34
Figura 2.5. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel vía electroquímica a 60 °C	37
Figura 2.6. Diagrama de bloques de la síntesis electroquímica de ferrita de níquel.	38
Figura 2.7. Diagrama de bloques para la síntesis sonoelectroquímica y tratamiento posterior para obtener ferrita de níquel.	41
Figura 2.8. Difracción de los rayos X por los planos de un cristal de acuerdo con el modelo de Bragg.	43
Figura 2.9. Parámetros cristalográficos.	44
Figura 2.10 Difractómetro <i>Siemens D-5000</i> , con geometría $\theta/2\theta$.	45
Figura 2.11. Diagrama de funcionamiento del analizador ICP-MS	47
Figura 2.12 Esquema de los componentes y funcionamiento del Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).	49

Figura 2.13 Esquema del funcionamiento de un espectrofotómetro infrarrojo (IR).	50
Figura 2.14 Componentes comunes para el análisis termogravimétrico (TGA).	54
Figura 2.15 Diagrama de los componentes y funcionamiento de un espectrofotómetro de fotones por rayos X (XPS).	55
Figura 2.16 Esquema del proceso de medida del magnetómetro SQUID.	57
2.17 Modelo de la bicapa eléctrica para explicar la distribución de cargas alrededor de las partículas	58
Figura 3.1 Difractograma patrón de ferrita de níquel (ficha JCPDS-01-087-2335)	65
Figura 3.2. Espectros de rayos X de la ferrita de níquel obtenida por cuatro rutas de síntesis. a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica	66
Figura 3.3. Difractogramas de rayos X de la ferrita de níquel obtenida por vía: a) sonoelectroquímica y b) electroquímica.	67
Figura 3.4. Imágenes de TEM comparativas de las diferentes rutas de síntesis de la ferrita de níquel. a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.	72
Figura 3.5. Histogramas de la distribución de tamaño de partícula de la ferrita de níquel obtenida por: a) electroquímica y b) sonoelectroquímica.	74
Figura 3.6. Imágenes de contraste de electrones para la ferrita de níquel obtenida por a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.	75
Figura 3.7 Espectro de FTIR para la ferrita de níquel sintetizada a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica	77

Figura 3.8 Espectro Mössbauer para la ferrita de níquel sintetizada por el método de: a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica.	80
Figura 3.9 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial de a) ferrita de níquel sintetizada vía a) co-precipitación; b) ferrita de níquel sintetizada vía sonoquímica.	82
Figura 3.9 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial de c) ferrita de níquel sintetizada vía electroquímica; d) ferrita de níquel sintetizada vía sonoelectroquímica	83
Figura 3.10 Espectros de XPS para las regiones: a) $\text{Ni}_{(2p)}$ y b) $\text{Fe}_{(2p)}$ medidos para nanopartículas de ferritas de Fe y Ni sintetizadas mediante a) coprecipitación, b) electroquímica, c) sonoelectroquímica y d) sonoquímica.	86
Figura 3.11 Variación de la magnetización (M) con el campo aplicado (H) para la ferrita de níquel sintetizada por electroquímica a 300 K.	87
Figura 3.12 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas de la NiFe_2O_4 obtenida vía electroquímica	88
Figura 3.13 Curvas de magnetización de la muestra NiFe_2O_4 obtenida por sonoelectroquímica a diferentes temperaturas. La gráfica inserta muestra la ampliación de las mismas	89
Figura 3.14 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas de la NiFe_2O_4 obtenida por coprecipitación.	90
Figura 3.15 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas. de la muestra NiFe_2O_4 obtenida por sonoquímica.	90

Figura 3.16 Medida del potencial Z a la ferrita de níquel en suspensión en KNO_3 10^{-2} M, sintetizada por a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.	91
Figura 4.1.- Esquema del funcionamiento de un biosensor	98
Figura 4.2. Estructura de la enzima Glucosa Oxidasa (GOx)	
Figura 4.3. Diagrama del sensor enzimático de glucosa y su interacción con la solución	104
Figura 4.4 Esquema de la celda electroquímica convencional empleada para realizar la voltametría cíclica	106
Figura 4.5. Voltamogramas cíclicos de una solución de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s^{-1} , empleando un electrodo de carbón vulcan o de ferrita de níquel.	108
Figura 4.6. a) Voltamograma cíclico de la oxidación de una solución 10 mM de glucosa en buffer de fosfatos pH 7.4 en función de la cantidad de ferrita en el electrodo. b) Efecto de la concentración de ferrita en la corriente de oxidación.	109
Figura 4.7. Voltamogramas cíclicos de la oxidación de glucosa en buffer de fosfatos pH 7.4 a) 0; b) 2; c) 5; d) 10; e) 50; f) 100 y g) 500 mM. Con el electrodo 50 % en peso de ferrita de níquel- carbón vulcan. Velocidad de barrido 20 mV s^{-1} .	110
Figura 4.8. a) Voltagrama cíclico del electrodo de pasta 50 % en peso ferrita de níquel: carbón vulcan. Para la oxidación de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4. A diferentes velocidades de barrido a) 10, b) 20, c) 50, d) 100 y e) 200 mV s^{-1} . La figura inserta b) muestra la relación entre I_{max} vs $v^{1/2}$	111
Figura 4.9 Estudio hidrodinámico de la variación en la intensidad de corriente para	113

glucosa 0.1 mM sobre el electrodo ferrita/vulcan 50-50.

Figura 4.10. Amperometria en 5 mL de buffer de fosfatos pH 7.4 con 5 alícuotas de 50 μ L, empleando el electrodo de pasta de carbono con ferrita de níquel. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE 114

Figura 4.11 Señales amperométricas sucesivas obtenidas con una concentración 0.1 mM. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 115

Figura 4. 12 Gráfica de control para evaluar la estabilidad del sensor ferrita/ vulcan con el tiempo, en una concentración 0,1 mM de glucosa. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 116

Figura 4.13 Cronoamperometría para evaluar la selectividad del sensor ferrita/ vulcan en presencia de ácido úrico y glucosa 0.005 mM en buffer de fosfatos. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 117

Figura 4.14 Cronoamperometría para evaluar la selectividad del sensor ferrita/ vulcan en presencia de ácido ascórbico y glucosa 0.005 mM en buffer de fosfatos. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 118

Figura 4.15. Cronoamperometria en 5 mL de buffer de fosfatos pH 7.4 con alícuotas de 50 μ L, empleando el electrodo de pasta de carbono, ferrita de níquel y GOx. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 119

Figura 4.16 Reproducibilidad del electrodo ferrita/ vulcan/ GOX con la adición de 50 μ L de glucosa 10 mM en 5 mL de buffer de fosfatos. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE 120

Figura 4.17 Gráfica de control para evaluar la estabilidad del sensor ferrita/ vulcan/ GOx, con el tiempo, en una concentración 0.1 mM de glucosa en tampón. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE. 121

Figura 4.18 a) voltamogramas cíclicos de metanol 10 mM en 0.1 M NaOH a diferentes valores de pH empleando un electrodo de pasta de carbono + ferrita de níquel. b) Relación entre la corriente de oxidación y el pH de la solución.	122
Figura 4.19 Corriente de oxidación vs concentración de metanol (0, 5, 10, 20, 50, 100 mM) en una solución 0.1 M NaOH (pH 14) empleando un electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan)	123
Figura 4.20 Voltamograma cíclico de: a) electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan) en una solución 50 mM de metanol en sosa 0.1 M a diferentes velocidades de barrido. b) electrodo de Ni en NaOH 0.1 M.	124
Figura 4.21. Mecanismo de reacción entre la solución de metanol y la superficie del electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan)	125
Figura 4.22 Estudio hidrodinámico de la variación en la intensidad de corriente para metanol 0.1 mM en sosa 0.1 M sobre el electrodo ferrita/vulcan (50/50)	126
Figura 4.23 Amperometria con alícuotas de diferente volumen de metanol 50 mM en pH 14, empleando el electrodo de pasta de carbono, ferrita de níquel. $E_{ap} = + 0.5$ V vs SCE	127
Figura 4.24 Intervalo de linealidad para el sensor ferrita/ vulcan en metanol. Curvas amperométricas en 5 mL de buffer de. $E_{ap} = + 0.6$ V vs SCE	127
Figura 5.1.- Esquema de una biocelda de combustible de microflúidos	134
Figura 5.2. Esquema de operación de una celda de combustible separada por membrana.	138
Figura 5.3. Curvas de descarga y polarización de la pila de glucosa empleando como	140

ánodo un electrodo de pasta de carbono y ferrita de níquel 50 % en peso y como cátodo una placa de Pt. A diferentes concentraciones de glucosa.

Figura 5.4. Curvas de descarga y polarización en glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4. empleando como ánodo electrodo a) Au, b) electrodo de pasta de carbono- ferrita de níquel 50 % en peso y c) electrodo de carbón vítreo modificado con 6 mg de ferrita de níquel

Figura 5.5. Esquema de la preparación de ánodo y cátodo en la celda de microfluídos.

Figura 5. 6. Esquema del funcionamiento de la celda de microfluídos en régimen laminar.

Figura 5.7. Difractograma de rayos X de la maghemita Nanoteck

Figura 5.8. Micrografía electrónica de transmisión de las nanopartículas de maghemita Nanoteck

Figura 5.9 Histograma de la distribución de tamaños de las nanopartículas de maghemita Nanoteck

Figura 5.10 Voltametría cíclica que demuestra el efecto de la cantidad de maghemita en la tinta catalítica para el proceso de oxidación de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s^{-1} . a) 1 mg y b) 6 m de maghemita.

Figura 5.11. Voltagrama de la oxidación de Glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s^{-1} . Electrodo a) electrodo de carbón vítreo; b) GOx sobre carbón vítreo c) maghemita sobre carbón vítreo

Figura 5.12. Voltamogramas cíclicos del electrodo de carbón vítreo modificado a)

GCE/maghemita, b) GCE/ maghemita/ GOx, c) GCE/ GOx, glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} .

Figura 5.13. Curva de polarización y densidad de potencia de glucosa 10 mM en 153 buffer de fosfatos pH 7.4 utilizando como ánodo a) maghemita/GOx; b) GOx y c) nanopartículas de maghemita; cátodo, Pt nanoparticulas.

Figura 5.14. Curva de polarización y densidad de potencia en buffer de fosfato pH 154 7.4 que contiene a) 10 mM; b) 50 mM y c) 100 mM de glucosa, en una celda de microfluídos con: ánodo, maghemita + GOx y cátodo, NPs de Pt.

Figure 5.15. Estabilidad con respecto al tiempo de la celda de microfluídos con 155 ánodo, maghemita + GOx y cátodo de platino. Una solución de glucose 10 mM en buffer de fosfatos; y una solución enriquecida de O_2 en operación continua. a) electrodo recién preparado; b) electrodo después de una hora y c) después de 2 días de preparado el electrodo.

Figura A1. Amperometrías con los diferentes electrodos de pasta empleando como 172 analito NADH

Figura A2. Amperometrías comparativas entre los electrodos de mejores reultados 173 (D y F) empleando como analito NADH

Figura A3. Voltametrías cíclicas comparativas entre los electrodos de mejores 174 reultados (D y F) en NADH 10 mM.

Figura A4. Amperometrías con los diferentes electrodos de pasta empleando como 175 analito H_2O_2

Figura A5 Voltametría cíclica electrodo 10% ferrita/ 10%NTC/ 10%Myb/ 70%LI, en 176

una solución 5mM superior $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_3[Fe(CN)_6]$ y 0.1 M KCl, a velocidades de barrido, 10, 20, 50, 100 y 200 mV/s

Figura A6 Voltametría cíclica de la respuesta de tres electrodos a) GCE+NTC; b) GCE+ 177
NTC+ ferrita-glutaraldehido; c) 10% ferrita/ 10%NTC/ 10%Myb/ 70%LI, en una
solución 5mM superior $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_3[Fe(CN)_6]$ y 0.1 M KCl, a velocidades de
barrido, 10, 20, 50, 100 y 200 mV/s

Figura A7 Respuesta del electrodo de carbon vítreo/ $NiFe_2O_4$ - glutaraldehido+ HRP. 178
Solución de Hidroquinona 10 mM y 50 mV/s. y posterior presencia de H_2O_2 10 mM.

Figura A8 Electrodo de carbón vítreo modificado con ferrita de níquel, carbón vulcan 179
y AOD, solución 1 y 10 mM de etanol en buffer de fosfatos pH 7 a 10 mV/s

Figura A9. Curva de descarga en una biopila de glucosa. Ánodo: Au/Ferrita/Carbón 180
vulcan/ GOx/ nafion. Cátodo: Au/Carbon vulcan/lacasa/ nafion.

Índice de tablas

Tabla	página
Table 1.1. Synthesis route of magnetic nanoparticles.	7
Tabla 3.1. Tamaño de cristal para la ferrita de níquel obtenida experimentalmente calculado a partir del difractograma de rayos X.	68
Tabla 3.2 Parámetros de red de la celda unitaria del cristal para la ferrita de níquel obtenida experimentalmente.	70
Tabla 3.3. Relación Fe: Ni presentes en la ferrita de níquel obtenida por cuatro metodologías diferentes	70
Tabla 3.4 Comparación de los valores reportados y experimentales para la distancia interplanar entre anillos d (Å) con respecto a los planos de difracción (h / k). (ficha JCPDS-01-087-2335).	75
Tabla 3.5. Punto isoeléctrico para las muestras de ferrita de níquel obtenidas por 4 metodologías diferentes.	92
Tabla 3.6. Medida del radio hidrodinámico para las muestras NiFe_2O_4 obtenidas por 4 metodologías diferentes.	93
Tabla 5.1. Trabajos reportados para sistemas de microfluídos con diferentes materiales como ánodo y cátodo	135
Tabla 5.2. Valores de potencial de circuito abierto y potencia máxima que aporta la pila empleando tres diferentes ánodos.	142
Tabla 5.3 valores obtenidos por la celda de microfluídos empleando diferentes	154

electrodos

Tabla 5.4. Valores de densidad de potencia para microceldas de combustibles 156

reportadas en la literatura.

Tabla A1. Enzimas inmovilizadas sobre nanopartículas magnéticas 164

Tabla A2. Preparación de **electrodos de pasta**. 167

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de ferrita de níquel por cuatro metodologías diferentes: coprecipitación, sonoquímica, electroquímica y sonoelectroquímica. Cada una de las muestras obtenidas por estos métodos, fueron caracterizadas estructuralmente mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM), Difracción de rayos X (DRX), espectroscopia Mössbauer, análisis termogravimétrico (TGA), espectroscopía infrarroja (IR). También se utilizaron técnicas cuantitativas como la Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) para determinar su composición. La caracterización magnética se llevó a cabo por la técnica de SQUID. Las propiedades coloidales fueron determinadas mediante la medida del potencial Z, así como el radio hidrodinámico.

Los resultados de estas técnicas nos permitieron hacer un estudio comparativo entre las rutas de síntesis. La técnica electroquímica dió como resultado el material con mejores propiedades estructurales y magnéticas. Esta técnica consiste en la oxidación de Fe y Ni metálicos inmersos en un surfactante amoniacal que se oxidan por la aplicación de una corriente controlada. Las nanopartículas obtenidas de esta manera presentan tamaños de entre 30 y 40 nm, con un pequeño intervalo de distribución.

Las nanopartículas magnéticas así obtenidas se aplicaron como un material compuesto para la electrooxidación de glucosa y metanol, aprovechando las buenas propiedades catalíticas que brinda la inserción del níquel en la estructura. Finalmente dichos compositos se utilizaron en la elaboración de sensores y como ánodo en celdas de microfluídos en base de la transformación de glucosa.

CHAPTER 1.

INTRODUCTION

Chapter 1

Introduction

In the last decades, nanomaterials and their unique properties have been widely studied, from the beginning of the promising nanoscience, forecasted by Richard Feynman in 1959, until the much modern uses of nanotechnology ^[1-3]. Nanomaterials science opens up an infinite field of research and practical applications. In this sense millions of dollars are being invested in the study and development of new nanomaterials with attractive potential applications. This enthusiasm for nanoparticles has been spread out to the field of the magnetic nanoparticles.

Magnetic nanoparticles (MNPs) are a class of materials that can be manipulated under the influence of an external magnetic field. Thanks to the ability of the MNPs to be guided by an external magnetic field that is like "action at a distance", combined with their low cytotoxicity and the intrinsic penetrability of magnetic fields into human tissue, opens up many applications involving the transport and/or immobilization of biological entities ^[4, 5]. Magnetic materials can be classified according to the arrangement of its spins, giving rise to different types of magnetism, as described in the next section.

1.1 Kinds of magnetic materials

Magnetic particle materials are classified by their response to the external magnetic field applied. The description of orientations of magnetic moments in a particle helps to identify the different types of magnetism observed in the materials. The magnetism is

originated from the contributions of the electrons constituting a solid and the relative motion of electric charge (orbital/ spin motion) ^[6, 7]. The magnetic properties of these particles can be described by the dependence of the magnetic induction (magnetism) B on the magnetic field H . Magnetic materials have more or less degree of some magnetism phenomena such as diamagnetism, paramagnetism and ferromagnetism (as summarized in figure 1). The antiferromagnetism and ferrimagnetism are considered subclasses of ferromagnetism ^[7].

The diamagnetism phenomenon occurs when the magnetic interactions are weak, the thermal agitation at room temperature can make the magnetic moments to flip over continuously, so that the average magnetic moment measured is very small or zero. These materials are broadly called non-magnetic, and display a linear response to the applied field, as shown in figure 1a and 1b ^[7].

In case of paramagnetic particles, the magnetic moments that can be aligned in an external magnetic field. The paramagnetism can be understood as permanent atomic magnetic moments, which can be reoriented in an external magnetic field ^[8].

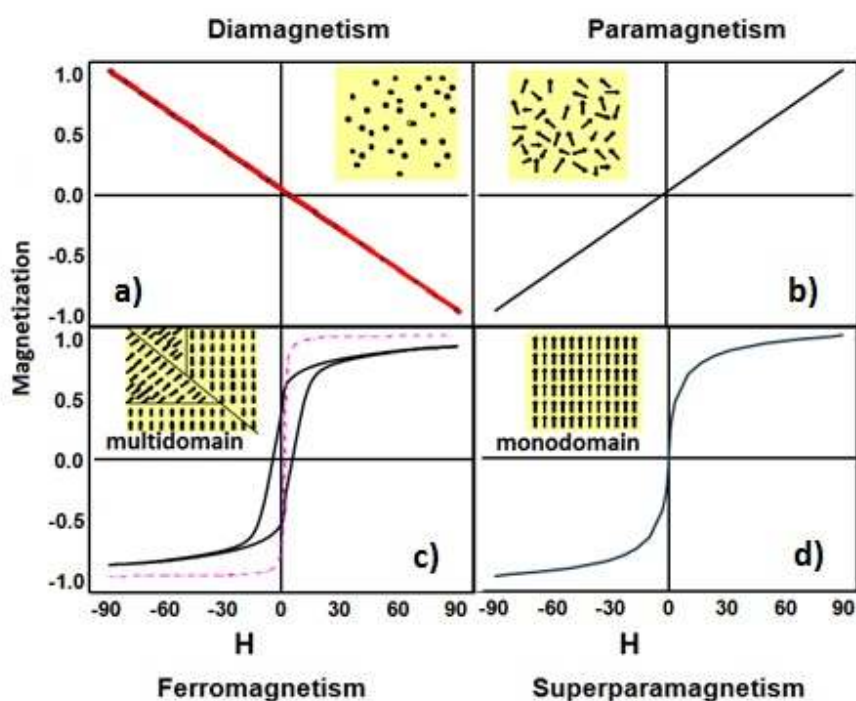


Figure 1. Magnetism phenomenon present in magnetic materials. ^[7]

The term “superparamagnetism” is used to infer an analogy between the behavior of the small magnetic moment of a single atom and that of the much larger magnetic moment, for example a nanosized magnetic particle which arises because of the coupling of many atomic spins. After eliminating the magnetic field, the particles no longer show magnetic interaction; which is a feature that is important for subsequent use. In the superparamagnetic particles, thermal fluctuations are strong enough to spontaneously demagnetize a previously saturated assembly, therefore these particles have zero coercivity and have no hysteresis (figure 1d) ^[4, 9].

Finally, ferromagnetism is a cooperative phenomenon, because single atoms cannot exhibit ferromagnetism, but once a certain number of atoms are bounded together in

solid form, ferromagnetic properties arise. When the ferromagnetic particles are removed from the magnetic field, they exhibit permanent magnetization. Upon magnetic field reversal, the ferromagnetic material will initially oppose the change, but most domains that will have switched, eventually attained their magnetization ^[10].

Particles whose unpaired electron spins align themselves spontaneously so that the material can exhibit magnetization without being in a magnetic field, are called ferromagnetic particles. The most important properties of these kinds of materials, also known as magnetic ferrites are detailed below.

1. 2. Ferrites

Ferrites are one of the most widely used classes of magnetic oxides, ferrous or ferric oxide is the main constituent of magnetic particles, although divalent metals, such iron, nickel, cobalt etc. are also employed ^[11, 12]. Ferrites are represented generally by the formula $MO.Fe_2O_3$. In the particular case in which the ferrous oxide are combined with the ferric oxide, magnetite is formed, which is a ferrite particular type of formula Fe_3O_4 ^[13]. The crystalline structure corresponds to spinel inverse structure where the unit cell contains 32 oxygen atoms in cubic closest packing with 8 tetrahedral and 16 octahedral occupied sites ^[14] as figure 2 shows.

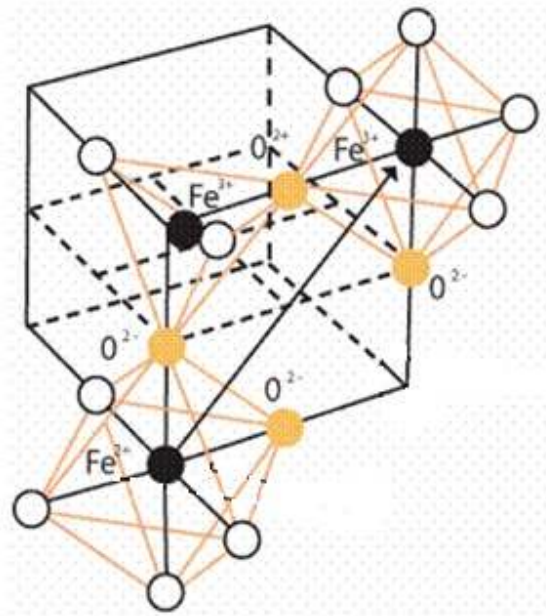


Figure 2. Ferrite structure.

In the case of ferrites with other divalent cation, this divalent cation occupies one half of the octahedral coordination sites and the Fe^{3+} cation occupies the other half of the octahedral sites and too all of the tetrahedral sites. Ferrites are an important soft-material due to its unique electrical and magnetic properties and because of its magnetocrystalline anisotropy, high electrical resistivity, chemical stability and mechanical hardness^[15].

Magnetic properties of the nanoparticles show a strong dependence on size, shape and chemical composition^[16]. Size and shape control in nanoparticles is one of the principal issues to improve in the chemical synthesis route and one of the topics that represents an intensive area of investigation.

For example, the reduction in size display features like high field magnetization irreversibility, variation in Neel temperature^[17], higher values of coercivity^[18], lower

values of saturation magnetization ^[18], altered (reduced or enhanced) magnetic moments, etc.

1.2.1 Synthesis of ferrites nanoparticles

Spinel ferrites (MFe_2O_4) were usually synthesized using divalent metal chloride in a high temperature, no-hydrolytic reaction between divalent metal chloride (MCl_2) and iron salts in basic medium or in the presence of oleic acid, citric acid, oleylamine and others surfactants ^[20] under air or oxygen atmospheres ^[21]. Recently Lee et al. ^[22] reported the synthesis and characterization of $MnFe_2O_4$, $FeFe_2O_4$, $ZnFe_2O_4$, $CoFe_2O_4$ and $NiFe_2O_4$ by high-temperature reaction between divalent metal chloride and iron tris-2, 4-pentadioate ^[23, 24, 25, 26]. However, this is one of the routes of synthesis, but there is a great variety, which are described in this section.

The synthesis route as we mentioned before, affects the material properties such as shape, size, chemical composition, among other that are showed in table 1. The methods used to obtain ferrites nanoparticles are: co-precipitation, sol gel, sonochemistry ^[27, 28, 29], high-temperature decomposition of organometallic precursors, micro-emulsions and aerosol/ vapour methods ^[30].

Table 1. Synthesis route of magnetic nanoparticles.

Synthesis route	Size	Advantages	Disadvantages	References
Co-precipitation	50 – 6 nm	Low cost Stable in aqueous media Synthesis in ambient temperature and pressure	Large distribution of sizes and impurities due to surfactant or solvents.	[31, 32]
Reverse microemulsion	Smaller than 10 nm	Small size if in any this can be controlled varying concentration of the iron salts	Large particle size distribution	[3, 33]
Thermal decomposition	50 nm	Uniform size	Small yield, impurities and high temperatures	[34]
Sol-gel	20 – 10 nm	Ambient pressure and temperature	Impurities	[35]
Spray and laser pyrolysis	Less than 10 nm	Small size and low distribution	High cost and specialized equipment	[36]

The co-precipitation is the methodology more common and more studied to obtain ferrites by organic and aqueous routes ^[15, 37]. The methodology consists in a stoichiometric mixture of ferrous and ferric salts in aqueous media. Massart et. al ^[38, 39] were pioneers preparing magnetic nanoparticles from FeCl₂ and FeCl₃ salts in a molar relation $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+} = 1 / 2$, the precipitation was made in alkaline media (NaOH, NH₃, etc). The MNPs are formed by a nucleation and growth mechanism. To obtain good monodispersity the optimization of the conditions are required. A short nucleation event followed by a slower growth phase ^[32, 34, 40-42] is important.

Recent reports ^[31] describe slightly modifications to this synthesis protocols. To obtain very small particles the “arrested precipitation method” is used. In this method a molecule is added to the salt mixture to act as a growth inhibitor coating avoiding the growth and agglomeration steps.

A methodology recently applicable to obtain particles between 4 and 9 nm can be the electroprecipitation in ethanol. Fe_3O_4 precipitates can be obtained close to the electrode when an electric current passes through an iron nitrate ethanol solution ^[43].

The electrochemical synthesis has begun to emerge as an option among the conventional methods for the generation of magnetic nanoparticles. The advantages that this method presents is the control over the particle size by adjusting the imposed electrooxidation current density (i) or potential (E) to the system ^[44, 45].

As mentioned, each synthesis method produces particles with different characteristics, which in turn directly impacts the application give to the ferrite. The ferrites therefore can be used in different disciplines; some of them are described in the following section

1.2.2 Ferrites applications

Ferrites have a wide range of applications as spoilers for magnetic resonance spectroscopy, high density magnetic storage, magnetic separation, catalytic and separation processes, for metal recovery from wastewater, and more recently in biological applications as cellular therapy, tissue repair, drug delivery, as well as in magnetic sensors for metabolites and other biomolecules, biosensors, bioseparation, hyperthermia, ferrofluids, radar absorbing coatings, waveguides in the gigahertz region, biomedical and

clinical devices, repulsive suspension for levitated systems, gas sensors, for the fabrication of the magnetic cores of read/ write heads, for high-speed digital tapes or for disc recording^[1, 9, 11, 43, 46 - 50]. There are many advantages to use magnetic nanoparticles, in different applications due to their biocompatibility, huge specific surface area, good electrocatalytic activity, and low cost. Ferrites have been used as catalysts for some industrial important reactions such as hydrocarbons oxidation^[51], dehydration and alcohols dehydrogenation^[52, 53], alkylation reactions^[54] and glucose electrooxidation^[55]. The catalytic effectiveness of these systems is due to the ability of the metallic ions to migrate between the sub lattices without altering the structure which makes the catalyst efficient for many organic transformation reactions^[56]. The catalytic and electrochemical activities of ferrites depend on their stability, particle size and distribution^[57].

Ferrites with size in the range 10 – 20 nm are of great interest^[58, 59], due to their small size and high magnetization, such nanoparticles could be used to bind and transport proteins, nucleic acids and other biomolecules; they could provide a means of monitoring and influencing cellular processes. S. G. Grancharov et. al^[60] demonstrated a novel method of detecting either protein binding or DNA hybridization at room temperature using magnetic nanoparticles (MNPs) and a MTJ (magnetic tunnel junction) biosensor situated in orthogonal magnetic fields.

Electrochemical biosensor is other interesting application for these materials, Cao et al.^[61] reported an electrochemical biosensors using electron transfer in heme proteins immobilized on ferrites magnetic nanoparticles. Magnetic biosensors provide a sensitive tool for the rapid detection of analytes and these devices have been used to detect

extremely low concentrations of biomolecules in a very small volume of samples within just a few minutes ^[62].

Nanoferrite, which was used as a carrier in enzyme sensor, not only increases the stability and the amount of the immobilized enzyme but also improves the enzyme catalytic activity and the sensor response. Different works ^[62 - 66] reported the use of magnetic nanoparticles as carrier in the fabrication of glucose sensor. X. Zhi-Gang et. al. ^[64] showed that glucose oxidase (GOx) was covalently cross-linked to the unreacted hydroxy groups on the surface of synthesized magnetic nanoparticles by cross-linking agent. Then the composite particles MNPs/GOx were adhered onto a solid paraffin carbon paste electrode (SCPE) by magnetic force to fabricate a glucose sensor.

One of the more recent and significant applications of the magnetic nanoparticles properties has been in MRI (Magnetic Resonance Imaging) ^[67, 68] as a non-invasive imaging modality capable of providing high resolution anatomical images. The potential of current clinical medical imaging can be greatly expanded through the use of MNPs to improve differentiation of malignant and healthy tissue. In addition upon location of a malignancy or lesion, external magnetic fields can then be controlled to direct particle accumulations to deliver therapeutics. Lee et al ^[22] have demonstrated that MnFe_2O_4 nanoparticles are nontoxic in vitro and possess higher magnetic susceptibility than magnetite nanoparticles, suggesting that they may be used as an ultrasensitive contrast agent.

Magnetic fluids may undergo considerable heating if subjected to AC- magnetic fields. This effect can be used as a tumor therapy called hyperthermia. Although principles of hyperthermia using magnetic particles are already known for nearly half a century, first

therapy runs with humans patients were carried out only now. There magnetic nanoparticles are deposited in tumor tissue and are heated in an alternating magnetic field in order to destroy the tumor ^[69]. This treatment has been recognized as a promising form of cancer therapy particularly in synergy with chemo therapy and/ or radiotherapy. Cancer cells are usually destroyed at temperatures higher than 42°C to 43°C, whereas normal cells can survive to higher temperatures. Magnetic particles have been reported to demonstrate a therapeutic heating effect on several types of tumors in animals and cell cultures ^[70].

Recently, magnetic nanoparticles have been investigated to resolve various environmental problems, such as removing toxic metal ions and radioactive elements, capturing of microbial pathogens and organic dyes, accelerating the coagulation of sewage, and remediation of contaminants. The magnetic nanoparticles can be reusable after magnetic separation by removing the adsorbed toxic compounds ^[71]. Recent studies sought to adsorb heavy metals as Cr (VI) onto magnetic nanoparticles compared favorably with other adsorbents like activated carbon clay. The results have shown that magnetic nanostructured particles can be successfully applied to adsorb metal ions, in which the combined technique of bioabsorption and magnetic separations holds the advantages of flexibility, eco-friendly characteristics and economic in operational cost ^[72, 73]. However, the research in this area is in its nascent stage and detail investigations are required to establish the large scale purification of water in real life. ^[6, 74, 75].

Sheng et. al. ^[76] designed a microfluidic device for amperometric determination of glucose by packing enzyme modified magnetic nanoparticles (MNPs) in its microchannel as an

enzyme microreactor. The microfluidic devices offers a series of advantages including smaller dead volumes, shorter analysis time, higher automation, better portability, and disposability. This work used MNPs as support of enzyme molecules to prepare a microfluidic device and developed a microfluidic electrochemical method for glucose detection. By combining the advantages of microfluidic device (MD) and MNPs, fast and sensitive detection of glucose was achieved on this design

This work provides a promising way for design of a microfluidic biofuel cell used MNPs as support and glucose as fuel with low cost and excellent performance.

1.3. Nickel ferrite

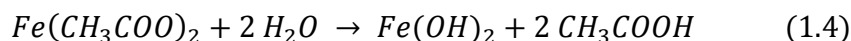
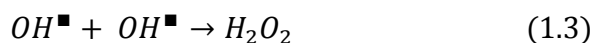
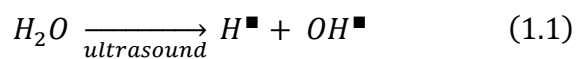
Nickel ferrite, NiFe_2O_4 , is one of the most important spinel ferrites with a Curie temperature of 585 °C. It has an inverse spinel structure showing ferrimagnetism that originates from magnetic moment anti-parallel spin between Fe^{3+} ions in tetrahedral sites and Ni^{2+} ions in octahedral sites [77, 78]. The location of the divalent cations (Ni^{2+}) in the crystal structure is closely related to the magnetic properties of the nickel ferrite [50]. The magnetic properties of NiFe_2O_4 , as in the case of magnetic nanoparticles depend upon various factors like magnetocrystalline anisotropy, canting effect, and dipolar interactions between the projected moments on nanoparticle surface [79]. J. Jacob et. al. [19] reported that NiFe_2O_4 samples exhibit ferrimagnetism, superparamagnetism, or paramagnetism depending on the samples microstructure. More works [17, 77, 80, 81] reported that the saturation magnetization of NiFe_2O_4 nanoparticles decrease with decreasing in particle size and this was attributed to the surface effect arising from the non-collinearity of the

magnetic moments on the surface. In other case, this factor is attributed to the reduction in magnetization with the reduction in grain size or cation redistribution (interchanging of Ni and Fe ions of the tetrahedral and octahedral sites) ^[77, 81]. In order to improve sinterability and magnetic properties, the investigation of alternative, non-conventional methods to obtain Ni-ferrite and other ferrites in the form of nanostructured powders is a current subject.

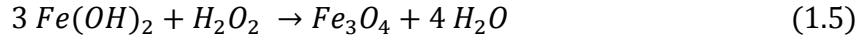
Nickel ferrites have been synthesized by several methods. Monodisperse NiFe_2O_4 nanocrystals have been prepared by thermolysis or by hydrolysis method. Liu et al ^[58] have synthesized NiFe_2O_4 nanoparticles by the shock waves synthesis. Superparamagnetic nickel ferrites nanoparticles with diameters less than 10 nm have been synthesized by sonochemical decomposition process, reverse micelle and aging treatment of the precipitated precursor at 145 °C ^[82]. Sol-gel method and reverse microemulsion process have been employed to prepare aggregate NiFe_2O_4 particles at room temperature and M_s values close to 55 emu / g ^[83]. Others methods that have been used, are solid state reaction, solvothermal, mechanosynthesis, hydrothermal ^[14, 78, 82], combustion techniques ^[84], and co-precipitation ^[85, 86].

Usually, nickel ferrite nanocrystals have been prepared from an aqueous solution containing metal nitrates ratio 2:1. Iron nitrate ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$), nickel nitrate ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$) and deionized water using a thermal treatment method followed by calcination. This method offers the advantages of simplicity, low cost, relatively low reaction temperatures, a lack of by-product effluents, and environmentally friendly alternative ^[87 - 90].

K. Shafi et. al. ^[91] employed sonochemical method to obtain nanosize amorphous powders of nickel ferrites. NiFe_2O_4 was prepared by ultrasonic irradiation of a solution of $\text{Fe}(\text{CO})_5$ and $\text{Ni}(\text{CO})_4$ at 273 K, under 100 – 150 kPa of oxygen, with a high-intensity ultrasonic probe, after 3 h of irradiation, a black powder was obtained, which was then centrifuged and washed with dry pentane inside the glove box. Reactions are possible in three different regions of the collapsing bubble generated by ultrasound waves, which are (a) the inner environment of the bubble, where elevated temperatures and pressures are produced causing pyrolysis of water into H and OH radicals. (b) the interfacial region which is between the cavitations bubbles and bulk solution, where temperatures are lower than that of the inner region but still high enough to induce the rupture of chemical bonds, and (c) the solution bulk which is at ambient temperature, where the reaction between the reactant molecules and surviving OH or H can still take place ^[92, 93]. E. Kim et al. ^[94] have shown that nanoparticles obtained by sonochemical method showed higher crystallinity than the particles obtained by the co precipitation. A.Ye. Baranchikov et al. ^[95] show as well the possibility to obtain nickel ferrite between 20 and 25 nm using sonochemistry as the synthesis route ^[93, 96-101]. The following model has been proposed



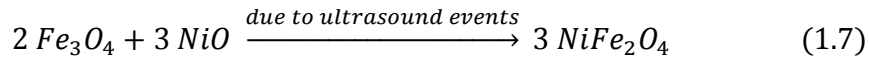
The oxidant generated due to ultrasound cavitation can initiate the oxidation of $\text{Fe}(\text{OH})_2$



In case of nickel acetate, sonochemical hydrolysis could result in the formation of NiO , as show in the following equation:

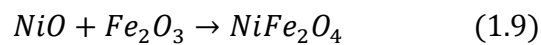
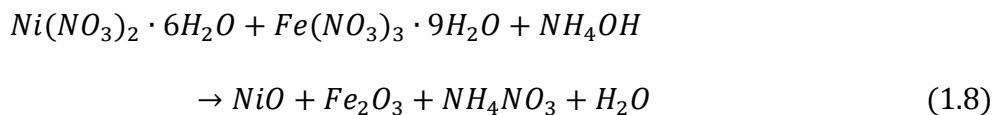


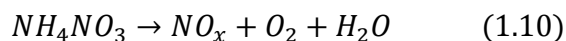
After the oxides formation, high temperature ultrasonic cavitation events could cause an in situ calcination in order to form the final ferrite as shown below:



S. A. Seyyed et al ^[83] and A. Pradeep et. al. ^[102] has used sol–gel auto combustion as route of synthesis to produce the single phase NiFe_2O_4 particles at two different conditions (pH 7 and 8). The grain sizes of the prepared ferrites are found to be in the range 24–31 nm.

The proposed chemical reaction is as follows:





The disadvantage of this method is that the sample prepared showed impurity phases and therefore microwave sintering is carried out to remove these impurities.

1.3.1 Nickel ferrites applications

Nickel ferrite has been widely used in different kind soft magnetic devices, such as inductors, magnetic heads, magnetic refrigeration and magnetic resonance imaging ^[79]. Nanostructured NiFe₂O₄ with its near zero hysteresis loop is an excellent core material for power transformers in electronics and telecommunication applications ^[19] and as well has been extensively studied for various oxidizing gas and humidity sensing, electric and electronic devices, catalysis applications ^[84] radar-absorbing coatings and ferro-fluids ^[88, 102].

S. Li et al ^[103] developed a class of structured nanomaterials that consisting of nickel ferrite hollow shells and silver nanoparticles cores, using highly uniform colloidal Ag@C microspheres as template. Experimental results showed that the composites possess the optical property and the outstanding antibacterial property of the Ag NPs and the magnetic property of the ferrite shells ^[103].

C.V. Gopal Reddy et al. ^[89] in a novel attempt, have been successfully used for the first time as a sensor to detect low concentrations of chlorine gas in air. The sensor does detect lower concentrations (10 ppm and less). Although, these results are good, more

efforts are necessary to improve the sensitivity. This sensor could become practically viable for the detection of traces (< 1 ppm) of chlorine in air.

Liqiang Luo ^[104] was exploited NiFe_2O_4 in biosensing application using glucose biosensor as model. The biosensor was structured by immobilizing enzyme Glucose Oxidase (GOx) in chitosan(CHIT)/ NiFe_2O_4 nanoparticles. A good biosensor was prepared due to the excellent biocompatibility of the film to GOx, the catalytic activity of the immobilized GOx and the direct electron transfer with the underlying glassy carbon electrode (GCE). The CHIT/ NiFe_2O_4 / GOx multilayer film modified GCE showed an amperometric response to glucose in the normal and diabetic level when ferrocene carboxylic acid was used as electron transfer mediator.

Recently, L. Luo et al. ^[105] in order to extend the applications of this ($\text{NiFe}_2\text{O}_4\text{NPs}$)/CHIT composite film, they fabricated a hydrogen peroxide (H_2O_2) biosensor based on the horseradish peroxidase immobilization in the film mentioned above. Furthermore, ferrocene carboxylic acid (Fc), which was used as a mediator, was immobilized on the electrode surface to build the biosensor. To improve the charge transfer catalytic property of NiFe_2O_4 , efforts have been made to prepare mixture of nano-composites (NCs) that may enhance the selectivity and sensitivity of the desired biosensor. J. Singh et al. ^[106] reported results of (NCs) chitosan- NiFe_2O_4 /CuO/FeO preparation and characterization onto indium tin oxide (ITO) for its application as a cholesterol biosensor. Ferromagnetic NiFe_2O_4 and CuO nanoparticles, which are bio-compatible, maintain the biological activity of the enzyme and improve electron transfer between the analyte (cholesterol) and the chitosan/ NiFe_2O_4 /CuO/FeO/ITO bioelectrode surface.

NiFe_2O_4 is attractive as anode in lithium ion batteries due to their excellent electrochemical performances with high first discharge capacity^[107]. For example, Li et. al.^[108] obtained NiFe_2O_4 with a high initial discharge capacity (1239 mAh g^{-1}) by using $\text{Ni-Fe}^{2+}\text{-Fe}^{3+}\text{-LDHs}$ (Layered Double Hydroxide) as precursor. Alcantara et al.^[109] achieved a similar first discharge capacity (1229 mAh g^{-1})^[107, 110].

For all the above mentioned, we can conclude that the use of nickel ferrites produce an enhancement of the catalytic effect in process such as direct glucose oxidation and can be excellent supports for the development of glucose sensors and other compounds. Therefore, the prospect of this work is to generate nickel ferrites which insert into a graphite paste electrode to catalyze the glucose and methanol oxidation reaction, and so to develop an amperometric sensor. Finally another task is to replace Au or Pt anode in a glucose fuel cell.

1.4 Chapter references.

- [1] J. R. McCarthy, R. Weissleder, *Adv Drug Deliver Rev.*, **60** (2008) 1241-1251.
- [2] D. Huska, J. Hubalek, V. Adam, D. Vajtr, A. Horna, L. Trnkova, L. Havel, R. Kizek, *Talanta*. **79** (2009) 402 - 411.
- [3] J. Esquivel, I. A. Facundo, M. E. Treviño, R. G. López., *J. Mater. Sci.* **42** (2007) 9015 – 9020.
- [4] Q. A. Pankhurts, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson., *J. Phys. D: Appl. Phys.* **36** (2003) R167 – R181.
- [5] T. Neuberger, B. Schopf, H. Hofmann, M. Hofmann, B. Von Rechenberg, *J. Magn. Magn. Mater.*, **293** (2005) 483 – 496.
- [6] R. D. Ambashta, M. Sillanpää, *J. Hazard. Mater.*, **180** (2010) 38 – 49.
- [7] G. F. Goya, V. Grazú, M.R. and Ibarra, *Current Nanoscience*, **4** (2008) 1-16
- [8] Elliott S.R., *The physics and chemistry of solids*. New York., Wiley., 1998.
- [9] J. Chomoucka, J. Drbohlavova, D. Huska, V. Adam, R. Kizek, J. Hubalek, *Pharmacol. Res.*, **62** (2010) 144 – 149.
- [10] Chen C., *Magnetism and metallurgy of soft magnetic materials*. New York., Dover Publications, Inc.; 1986.
- [11] V. I. Shubayev, T. R. Pisanic II, S. Jin., *Advanced Drug Delivery Reviews.*, **61** (2009) 467 – 477.
- [12] C. C. Berry., *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **42** (2009) 224003 -224012.

- [13] Z. Wang, X. Liu, M. Lv, P. Chai, Y. Liu, J. Meng., J. Phys. Chem. B. **112** (2008) 11292 – 11297.
- [14] Y. Cheng, Y. Zheng, Y. Wang, F. Bao, Y. Qin., J. Solid State Chem., **178** (2005) 2394 - 2397.
- [15] R. C. Plaza, J. L. Arias, M. Espin, M. L. Jiménez, A. V. Delgado., J. Colloid. Interface Sci., **245** (2002) 86 – 90.
- [16] J. M. Vargas, R. D. Zysler., Nanotechnology., **16** (2005) 1474 – 1476.
- [17] C. N. Chinnasamy, A. Narayanasamy, N. Ponpadian, R. J. Joseyphus, B. Jeyadevan, K. Tohji, K. Chattopadhyay., J. Magn. Magn. Mater., **238** (2002) 281 – 287.
- [18] Y. Shi, J. Ding, J. Appl. Phys., **90** (2001) 4078 – 4084.
- [19] J. Jacob, M. A. Khadar, J. Appl. Phys., **107** (2010) 114310 1-10.
- [20] Q. A. Pankhurts, N. K. T. Thanh, S. K. Jones, J. Dobson, J. Phys. D: Appl. Phys. **42** (2009) 224001, 1-15.
- [21] C-H. Peng, C-C. Hwang, C-K. Hong, S-Y Chen, Mater. Sci. Eng., B., **107** (2004) 295 – 300.
- [22] Y. Lee, J. Lee, C.J. Bae, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-H. Park, T. Hyeon. Adv. Funct. Mater, **15** (2005) 503 – 510.
- [23] S. A. Oliver, V. G. Harris, H. H. Hamdeh, J. C. Ho., Appl. Phys. Lett., **76** (2000) 2761 – 2763.
- [24] D. Lin, A.C. Nunes, C.F. Majkrzak, A. E. Berkowitz, J. Magn. Magn. Mater., **145** (1995) 343 – 348.

- [25] J. Z. Jiang, G. F. Goya, H. R. Rechenberg, J. Phys : Condens Matter., **11** (1999) 4063 – 4078.
- [26] S. Son, R. Swaminathan, M. E. McHenry, J. Appl. Phys., **93** (2003) 7495 – 7497.
- [27] J. Zhu, S. Huang, G. Guobin, N. Ming., Int. J. Mod Phys B., **19** (2005) 2508 – 2513.
- [28] A. Gedanken., Ultrason. Sonochem., **11** (2004) 47 – 55.
- [29] A. E. Barantchikov, V. K. Ivanov, N. N. Oleynicov, Y. D. Tretyakov, Mendeleev Commun., **14** (2004) 143 – 144.
- [30] P. Tartaj, M.P Morales, T. González- Carreño, S. Veintemillas-Verdaguer, C.J. Serna, J. Magn. Magn. Mater., **290 – 291** (2005) 28 – 34.
- [31] A. G. Roca, R. Costo, A. F. Rebolledo, S. Veintemillas-Verdaguer, P. Tartaj, T. González- Carreño, M.P Morales, C.J. Serna, J. Phys. D: Appl. Phys., **42** (2009) 224002 – 11.
- [32] M. A. Vergés, R. Costo, A. G. Roca, J. F. Marco, G. F. Goya, C.J. Serna, M. P. Morales, J. Phys. D: Appl. Phys. **41** (2008) 134003 – 10.
- [33] A. G. Roca, J. F. Marco, M.P Morales, C. J. Serna, J. Phys. Chem. C., **111** (2007) 18577 – 18584.
- [34] Y. Zhang, H. B. Huang, R. S. Huang, H. X. Lu, H. R. Zhai., J. Appl. Phys., **101**, (2007) 09J109 1-3
- [35] M. George, A. M. John, S. S. Nair, P. A. Joy, M. R. Anantharaman, J. Magn. Magn. Mater., **302** (2006) 190 – 195.
- [36] O. Bomati-Miguel O, A. F. Rebolledo, P. Tartaj 2008 Chem. Commun., 4168.
- [37] T. Sugimoto, E. Matijevic, J. Colloid Interface Sci., **74** (1980) 227 – 231.
- [38] R. Massart, V. Cabuil, J. Chim. Phys., **84** (1987) 967- 972.

- [39] C-H. Yu, K. Tam, E. S.C. Tsang, Handbook of Metal Physics., Elsevier B.V., 2009, chapter 5.
- [40] J.P. Jolivet, Metal Oxide Chemistry and Synthesis: From Solutions to Solid State, Wiley, New York, US, 2000.
- [41] A. K. Gupta, M. Gupta, Biomaterials., **26** (2005) 3995 – 4021.
- [42] O. Veiseh, J. W. Gunn, M. Zhang, Advanced Drug Delivery Reviews., **62** (2010) 284–304.
- [43] R. F. C. Marques, C. García, P. Lecante, S. J.L. Ribeiro, L. Née, N. J.O. Silva, V. S. Amaral, A. Millán, M. Verelst., J. Magn. Magn. Mater., **320** (2008) 2311 – 2315.
- [44] L. Cabrera, S. Gutiérrez, N. Menéndez, M.P. Morales, P. Herrasti, Electrochim. Acta., **53** (2008) 3436–3441
- [45] E. Mazario, M.P. Morales, R. Galindo, P. Herrasti, N. Menendez., J. Alloys Compd., **536S** (2012) S222– S225.
- [46] A. Brunsen, S. Utech, M. Maskos, W. Knoll, U. Jonas., J. Magn. Magn. Mater., **324** (2012) 1488 – 1497.
- [47] H. S. Choi, W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. I. Ipe, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni., Nat. Biotechnol., **25** (2007) 1165 – 1170.
- [48] N. Nitin, L. E. W. LaConte, O. Zurkiya, X. Hu, G. Bao., J Biol Inorg Chem. **9** (2004) 706–712.
- [49] T. Banerjee, S. Mitra, A. K. Singh, R. K. Sharma, A. Maitra, International Journal of Pharmaceutics., **243** (2002) 93–105.

- [50] J.A.C. de Paiva, M.P. F. Graça, J. Monteiro, M.A. Macedo, M. A. Valente., J. Alloys Compd., **485** (2009) 637– 641.
- [51] R.J Rennard, W. L. Kehl, J. Catal. **21** (1971) 282 - 286.
- [52] N. Tsubokawa, T. Kimoto, T. Endo, J. Mol. Catal. A: Chemical **101**, (1995) 45-49.
- [53] E. Manova, T. Tsoncheva, D. Paneva, J.L. Rehspringer. K. Tenchev, L. Mitov, L. Petrov, App. Catal. A: Gral. **317**, (2007) 34-38.
- [54] S. P. Ghorpade, V. S. Darshane, S. G. Dixit, Appl. Catal. A., **166**, (1998) 135 - 141.
- [55] Y. Mu, D. Jia, Y. He, Y. Miao, H. Wu, Biosens. Bioelectron., **26** (2011) 2948 - 2952.
- [56] R. Ramanathan, S. Sugunan, Catal. Communications, **8**, (2007) 1521 – 1526.
- [57] C.G. Ramankutty, S. Sugunan. Applied Catalysis A: General **218** (2001) 39–51.
- [58] Li-H. Liu, H. Dietsch, P. Schurtenberger, M. Yan., Bioconjugate Chem. **20** (2009) 1349–1355.
- [59] L-S. Zhong, J-S. Hu, H-P. Liang, A-M Cao, W-G. Song, L-J. Wan, Adv. Mater., **18** (2006) 2426–2431.
- [60] S. G. Grancharov, H. Zeng, I.S. Sun, S. X. W. Stephen O’Brien, C. B. Murray, J. R. Kirtley, G. A. Held., J. Phys. Chem. B, **109** (2005) 13030-13035.
- [61] D. Cao, P. He, N. Hu, Analyst., **128** (2003) 1268–1274.
- [62] J. Li, X. Wei, Y. Yuan, Sens. Actuators, B., **139** (2009) 400 – 406.
- [63] F. Yu, Y. Huang, A. J. Cole, V. C. Yang., Biomaterials **30** (2009) 4716 – 4722.
- [64] X. Zhi-Gang, L. Jian-Ping, T. Li, C. Zhi-Qiang., Chin. J. Anal. Chem., **38(6)** (2010) 800–804.

- [65] L. Betancor, M. Fuentes, G. Dellamora-Ortíz, F. López-Gallego, A. Hidalgo, N. Alonso-Morales, C. Mateo, J. M. Guisán, R. Fernández-Lafuente., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **32** (2005) 97–101.
- [66] F. N. Comba, M. D. Rubianes, L. Cabrera, S. Gutiérrez, P. Herrasti, G. A. Rivas., *Electroanalysis*, **22** (2010) No. 14, 1566 – 1572.
- [67] W. C. Zamboni, *The Oncologist.*, **13** (2008) 248–260.
- [68] C. Sun, J. S.H. Lee, M. Zhang, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **60** (2008) 1252–1265.
- [69] R. Müller, R. Hergt, M. Zeisberger, W. Gawalek, *J. Magn. Magn. Mater.*, **289** (2005) 13 – 16.
- [70] X. Liu, V. Novosad, E. A. Rozhkova, H. Chen, V. Yefremenko, J. Pearson, M. Torno, [70] S. D. Bader, A. J. Rosengart., *IEEE Trans. Magnet.*, **43** (2007) 2462-2464.
- [71] S. Singh, K.C. Barick, D. Bahadur, *J. Hazard. Mater.*, **192** (2011) 1539– 1547.
- [72] J- F. Liu, Z-S. Zhao, G-B Jiang, *Environ. Sci. Technol.*, **42** (2008) 6949–6954.
- [73] Y.F. Shen, J. Tang, Z.H. Nie, Y.D.Wang, Y. Ren, L. Zuo, *Sep. Purif. Technol.*, **68** (2009) 312–319.
- [74] Y.F. Shen, J. Tang, Z.H. Nie, Y.D. Wang, Y. Ren, L. Zuo., *Bioresour. Technol.*, **100** (2009) 4139–4146.
- [75] L. Peng, P. Qina, M. Lei, Q. Zeng, H. Song, J. Yang, J. Shao, B. Liao, J. Gua., *J. Hazard. Mater.*, **209– 210** (2012) 193– 198.
- [76] J. Sheng, L. Zhang, J. Lei, H. Ju. *Anal. Chim. Acta* 709 (2012) 41– 46
- [77] S. Maensiri, C. Masingboon, B. Boonchomb, S. Seraphin, *Scripta Mater.*, **56** (2007) 797–800.

- [78] J. Huo, M. Wei., Mater. Lett., **63** (2009) 1183–1184.
- [79] L. Lv, J-PingZhou, Q. Liu, G. Zhu, X.-ZhiChen, X-B Bian,P. Liu, Physica E., **43** (2011) 1798–1803.
- [80] A. Kale, S. Gubbala, R.D.K. Misra, J. Magn. Magn. Mater., **277** (2004) 350 – 358.
- [81] A.E. Berkowitz, R.H. Kodama, S. A. Makhlof , F.T. Parker, F.E. Spada, E.J. McNiff Jr. , S. Foner, J. Magn. Magn. Mater., **196 - 197** (1999) 591 – 594.
- [82] J. Zhang, J. Shi, M. Gong, J. Solid. State. Chem., **182** (2009) 2135–2140.
- [83] S.A. S. Ebrahimi, J. Azadmanjiri, J. Non-Cryst. Solids., **353** (2007) 802–804.
- [84] M.M. Rashad, O.A. Fouad, Mater. Chem. Phys., **94** (2005) 365 – 370.
- [85] A.S. Albuquerque, J.D. Ardisson, W.A.A. Macedo, J.L. López, R. Paniago, A.I.C. Persiano, J. Magn. Magn. Mater., **226 - 230** (2001) 1379 – 1381.
- [86] A.H. Morrish, K. Haneda, J. Appl. Phys., **52** (1981) 2497-2502.
- [87] K. Maaz, S.Karim, A.Mumtaz, S.K.Hasanain, J.Liu, J.L.Duan., J. Magn. Magn. Mater., **321** (2009) 1838 – 1842.
- [88] R. Dehghan, S.A. S. Ebrahimi, A. Badiei, J. Non-Cryst. Solids., **354** (2008) 5186 – 5188.
- [89] C.V. Gopal Reddy, S.V. Manorama, V.J. Rao., Sensor Actuator B., **55** (1999) 90–95.
- [90] M. Goodarz Naseri, E. B. Saion, H. A. Ahangar, M. Hashim, A. H. Shaari., Powder Technology., **212** (2011) 80–88.
- [91] K. V. P. M. Shafi, Y. Koltypin, A. Gedanken, R. Prozorov, J. Balogh, J. Lendvai, I. Felner, J. Phys. Chem. B., **101** (1997) 6409-6414
- [92] J. Pinkas, V. Reichlova, R. Zboril, Z. Moravec, P. Bezdicka, J. Matejkova, Ultrason Sonochem, **15** (2008) 257–264.

- [93] M. Sivakumar, T. Takami, H. Ikuta, A. Towata, K. Yasui, T. Tuziuti, T. Kozuka, D. Bhattacharya, Y. Iida, *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 15234-15243.
- [94] E. H. Kima, H. S. Leea, B. K. Kwak, B-K. Kim, *J. Magn. Magn. Mater.*, **289** (2005) 328 – 330.
- [95] A. Ye. Baranchikov, V. K. Ivanov, Y. D. Tretyakov, *Ultrason Sonochem.*, **14** (2007) 131 – 134.
- [96] Y. Iida, K. Yasui, T. Tuziuti, M. Sivakumar, *Microchemical Journal.*, **80** (2005) 159 – 164.
- [97] F. Dang, N. Enomoto, J. Hojo, K. Enpuku, *Ultrason Sonochem.*, **16** (2009) 649 – 654.
- [98] L. A. Crum, *Ultrason Sonochem.*, **2** (1995) S147 – S152.
- [99] N. K. Goh, A. C. C. Teoh, L. S. Chia, K. C. Teo., *Ultrason Sonochem.*, **3** (1996) S209 S214.
- [100] J. Reisse, T. Caulier, C. Deckerkheer, O. Fabre, J. Vandercamrnen, J.L. Delplancke, R. Winand., *Ultrason Sonochem.*, **3** (1996) S147 - S151
- [101] W-Z. Lv, B. Liu, Z-K. Luo, X-Z. Ren, P-X. Zhang, *J. Alloy Compd.*, **465** (2008) 261–264.
- [102] A. Pradeep, P. Priyadharsini, G. Chandrasekaran., *Mater. Chem. Phys.*, **112** (2008) 572–576.
- [103] S. Li, E. Wang, C. Tian, B. Mao, Z. Kang, Q. Li, G. Sun., *J. Solid State Chem.*, **181** (2008) 1650– 1658.
- [104] L. Luo, Q. Li, Y. Xu, Y. Ding, X. Wang, D. Deng, Y. Xu., *Sensor Actuator B.*, **145** (2010) 293–298.
- [105] L. Luo, L. Zhu, Y. Xu, L. Shen, X. Wang, Y. Ding, Q. Li, D. Deng, *Microchim Acta.*, DOI 10.1007/s00604-011-0591-6

[106] J. Singha, M. Srivastava, P. Kalita, B. D. Malhotra., Process Biochemistry xxx (2012)

xxx–xxx

[107] H. Zhao, Z. Zheng, K. W. Wong, S. Wang, B. Huang, D. Li., Electrochem Commun., **9** (2007) 2606–2610.

[108] X.D. Li, W.S. Yang, F. Li, D.G. Evans, X. Duan, J. Phys. Chem. Solids **67** (2006) 1286

[109] R. Alcántara, M. Jaraba, P. Lavela, J.L. Tirado, J.C. Jumas, J. Olivier-Fourcade, Electrochem. Commun. **5** (2003) 16.

[110] S. Ni, D. He, X. Yang, T. Li., J. Alloy Compd., **509** (2011) L305– L307.

Justificación del estudio

Las ferritas (óxidos de hierro y otro metal) son uno de los materiales nanoestructurados de mayor interés en la actualidad, por su estabilidad, la gran relación área/ volumen y sus propiedades magnéticas, lo que permite que puedan emplearse para diversas aplicaciones. La inserción de un metal como el níquel en la estructura de la ferrita la provee de un par de electrones $\text{Ni}^{+2/+3}$ que favorece la actividad catalítica de estos materiales. Debido a que la ruta de síntesis, es uno de los factores que influye directamente en las características finales de la nanopartícula, en este trabajo se realizó la síntesis de ferrita de níquel por cuatro métodos diferentes, coprecipitación, sonoquímica, electroquímica y sonoelectroquímica. Después de caracterizar cada una de las muestras pudo establecerse qué metodología proporciona un material con mejores propiedades. Para posteriormente aplicar la mejor de las ferritas como un material composite para la electrooxidación de glucosa y metanol, de manera directa o en combinación con la enzima glucosa oxidasa (GOx). Finalmente hemos aplicado dichos composites para la elaboración de sensores y como ánodo en celdas de combustible y celdas de microfluídos para la transformación de glucosa.

Objetivo general

Síntesis y caracterización de ferritas de níquel y su aplicación como material de electrodo.

Objetivos particulares

- 1.- Realizar un estudio comparativo de cuatro métodos de obtención de ferritas de níquel.
- 2.- Caracterizar estructural y magnéticamente la ferrita obtenida por cada uno de los métodos propuestos.
- 3.- Caracterizar electroquímicamente los electrodos elaborados con las nanopartículas magnéticas.
- 4.- Evaluar la actividad catalítica de las ferritas de níquel en la oxidación directa e indirecta de glucosa y metanol.
- 5.- Elaboración y caracterización del sensor
- 6.- Evaluar la efectividad de las nanopartículas magnéticas como ánodo en celdas y microceldas de combustible para la transformación de glucosa.

CAPITULO 2.

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Capítulo 2

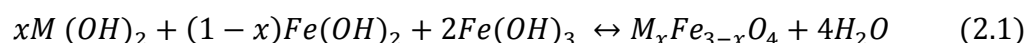
TÉCNICAS EXPERIMENTALES.

En este capítulo se describe cada una de las técnicas de síntesis aplicadas a la obtención de ferrita de níquel, así como los reactivos, equipos y condiciones óptimas de trabajo. Posteriormente se explicará el fundamento de cada una de las técnicas de caracterización que se emplearon para el análisis de las muestras, las condiciones en las que se realizó dicho análisis y los parámetros que se pueden derivar de cada una de ellas.

TÉCNICAS DE SÍNTESIS DE FERRITAS DE NÍQUEL

2.1 Síntesis por co-precipitación

La técnica de co-precipitación es una de las metodologías más comúnmente utilizadas para sintetizar materiales nanométricos, debido a que ofrece la posibilidad de obtener una gran cantidad de producto ^[1]. La técnica consiste en la oxidación en medio básico de sales metálicas en este caso Fe^{3+} y Ni^{2+} en una relación molar de 2:1 ^[2]. De acuerdo con la metodología propuesta por Huang y Matijevi ^[3] durante el proceso de co-precipitación, se forman inicialmente los hidróxidos de los metales correspondientes, los cuales reaccionan entre sí para formar las ferritas como se muestra en la siguiente reacción general:



Donde $0 \leq x \leq 1$ y M es un ión metálico divalente, en nuestro caso el Ni. Huang y Matijevi^[3], indican además una desventaja de este método, que la velocidad de formación de la ferrita de níquel, por este método es mucho más lenta en comparación con las ferritas de Mn, Fe, Co o Zn. Esto se debe a que los iones de Ni^{2+} deben liberarse del Ni(OH)_2 para luego ser adsorbidos sobre el Fe(OH)_3 formado, siendo este proceso más lento, que el de formación de compuestos intermediarios como la goethita $\alpha\text{-FeO(OH)}$. Para el caso específico de la síntesis de ferrita de níquel, en este trabajo se siguió la metodología propuesta por Dehghan y colaboradores^[4], que consiste en disolver $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (relación molar 2:1) en agua destilada. Esta disolución se adicionó a otra, de NaOH 2M, bajo continua agitación, durante una hora a la temperatura de 60 °C.

2.1.1 Desarrollo experimental para la síntesis por coprecipitación: El montaje experimental es simple como se puede observar en la figura 2.1.

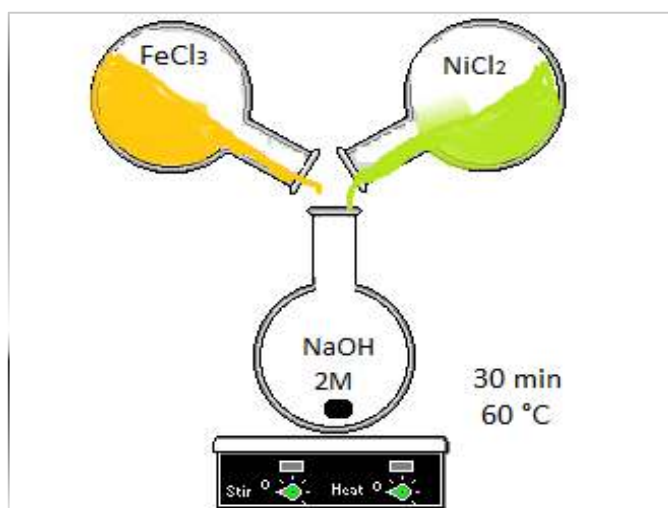


Figura 2.1. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel por co-precipitación.

Para la realización de esta síntesis, se prepararon 150 mL de una solución 2 M de NaOH (97 % Sigma- Aldrich), que se llevó hasta 60 °C, esta temperatura se mantuvo constante durante el desarrollo de la síntesis al igual que la agitación magnética vigorosa. Una vez que se alcanzó la temperatura, se adicionaron 25 mL de una solución 0.1 M de FeCl₃ (Technical) y 25 ml de una solución 0,05 M de NiCl₂ (Technical). La reacción se mantuvo en las mismas condiciones de agitación y temperatura durante 30 minutos. El producto final se lavó con agua destilada en repetidas ocasiones, recuperandose el precipitado por centrifugaciones sucesivas a 8000 rpm durante 15 minutos. Finalmente se dejó secar a vacío por un periodo de 12 horas a una temperatura de 60 °C. Las etapas principales de este proceso se resumen en la figura 2.2.

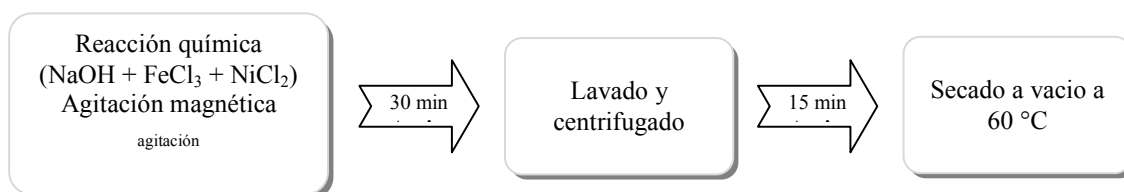


Figura 2.2 Diagrama de bloques de las etapas de la síntesis de NiFe₂O₄ por coprecipitación.

2.2 Síntesis por sonoquímica.

Una modificación del método de coprecipitación, es la sustitución de la agitación magnética por irradiación con ondas ultrasónicas. Los efectos químicos del método sonoquímico, que se realiza con un ultrasonido, se derivan de la cavitación acústica, que produce burbujas en los líquidos. Hay dos regiones de reactividad sonoquímica, la zona interior de la burbuja y el colapso de la interfase entre las burbujas y el líquido. La

cavitación puede generar temperaturas muy elevadas más de 5000 K y la presión sobre 20 MPa, lo que puede permitir que muchas de las reacciones químicas se produzcan, siendo imposible que esto suceda si no se aplican ultrasonidos. En pocas palabras, durante el proceso, el colapso implosivo de burbujas genera puntos calientes localizados a través de la compresión adiabática o la formación de ondas de choque dentro de la fase de gas de las burbujas de cavitación. Esta metodología ha sido aplicada para obtener gran diversidad de materiales ^[5, 6]. P.E. Meskin y col. ^[7] afirman que el ultrasonido aumenta considerablemente la velocidad de descomposición de los compuestos orgánicos en agua. Por lo que sugieren que se favorecería la generación de óxidos en solución, debido principalmente a:

- La formación de centros de nucleación adicionales en las burbujas, generados por la cavitación.
- Se incrementa la velocidad de formación de los cristales debido al aumento de los coeficientes de difusión efectivos, así como a la renovación continua de la superficie de las partículas en crecimiento
- Ruptura de los agregados de partículas debido a las ondas de choque y “microjets” del líquido

2.2.1 Desarrollo experimental para la síntesis por sonoquímica: Para realizar la síntesis por este método, se emplearon 150 mL de una solución 2 M de NaOH (97 % Sigma- Aldrich). Esta solución se colocó dentro del reactor de ultrasonido Hielscher

Ultrasonic Processor UP200S, 200 watts. La figura 2.3 muestra un esquema del montaje experimental para la realización de la síntesis.

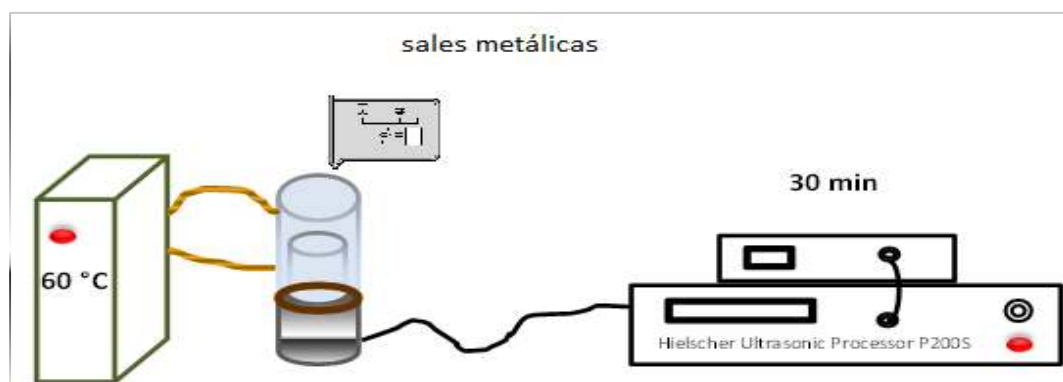


Figura 2.3. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel vía sono-química a 60 °C y 1040 kHz de frecuencia de ultrasonido.

Dentro del reactor, que fue termostatizado a 60 °C, se adicionaron 25 mL de una solución 0.1 M de FeCl_3 (Technical) y 25 mL de una solución 0.05 M de NiCl_2 (Technical). La reacción se mantuvo con ultrasonido durante 30 minutos a una frecuencia de 1040 kHz. El producto final fue una solución marron de consistencia viscosa, con un ligero precipitado de color oscuro. El material fue lavado de la misma forma que se describió para la síntesis por coprecipitación. Las etapas de esta síntesis se resumen en la figura 2.4

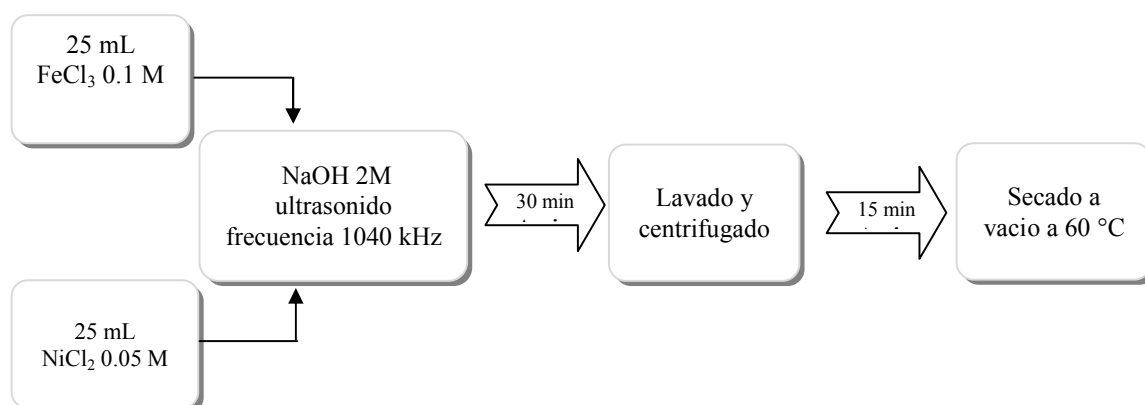
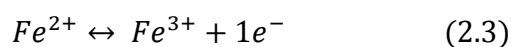
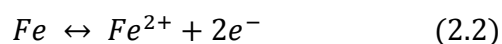
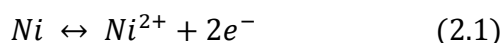


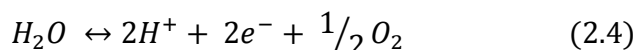
Figura 2.4. Diagrama de bloques de la síntesis de ferrita de níquel vía sonoquímica.

2.3 Síntesis electroquímica.

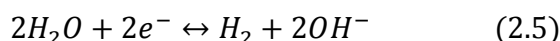
El método electroquímico ha sido desarrollado por nuestro grupo de investigación, los primeros trabajos se enfocaron a la electrosíntesis de magnetita ^[6, 8]. La metodología consiste en la producción de iones en disolución mediante la oxidación a corriente o potencial controlado de una lámina del mismo metal del que se quieren generar los iones metálicos. Para obtener la ferrita de níquel es necesario el uso de dos láminas metálicas, una de hierro y otra de níquel a la cual se les aplica una corriente positiva para producir la oxidación del metal a los iones Fe^{3+} y Ni^{2+} . De acuerdo con las siguientes reacciones:



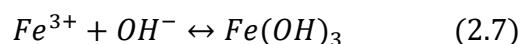
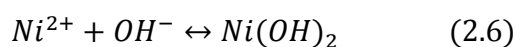
Además en el ánodo se produce la electrólisis del agua que se expresa en la ecuación 2.4:



El cátodo empleado es una lámina de hierro a la que se le aplica una corriente negativa. Sobre esta placa se produce la reducción de agua con la producción de OH^{-} como se ve en la reacción 2.5:



La reacción que tienen lugar en los ánodos y el cátodo son:



Siendo la reacción global que ocurre



El método se puede considerar como un método de coprecipitación controlado, debido a que la cantidad de iones que se producen en la disolución se generan durante el tiempo de aplicación de la corriente. El producto final es obtenido por reducción de los hidróxidos formados.

2.3.1 Desarrollo experimental para la síntesis electroquímica: Como ya se ha indicado, para la síntesis de ferrita de níquel se emplearon como ánodos de sacrificio una placa de hierro (Goodfellow 99,5 % de pureza) y una de níquel (Goodfellow 99% de pureza) de 1 cm² de área electroactiva. La figura 2.5 muestra el esquema del montaje experimental, donde podemos observar que los ánodos se colocaron frente a frente y a un centímetro de distancia uno del otro, estos se rodean por una lámina de hierro (Goodfellow 99,5 % de pureza) con área electroactiva de 67 cm² que sirvió como cátodo.

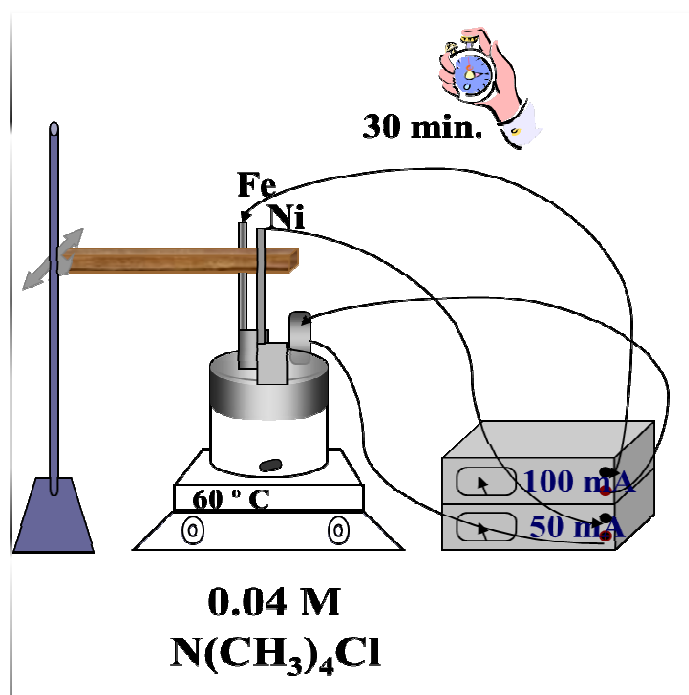


Figura 2.5. Esquema del montaje experimental para la obtención de ferrita de níquel vía electroquímica a 60 °C

Dichos electrodos fueron inmersos en una solución electrolítica 0.04 M de cloruro de tetrametil amonio (CH₃)₄NCl (Merck), que además de permitir la conducción eléctrica sirve como surfactante para evitar la aglomeración de las nanopartículas obtenidas. Al ánodo de hierro se le aplicó una corriente de 100 mA y al de níquel 50 mA con la finalidad de lograr una relación de 2 a 1 entre el hierro y el níquel del producto final. Para cerrar el circuito se aplicaron al cátodo 150 mA, la corriente fue aplicada por dos potencióstatos/galvanostatos VersaStat T, EG&G Instruments Princeton Applied Research. La síntesis se mantuvo también a 60 °C y en agitación magnética vigorosa durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se obtuvo una solución marron oscura ligeramente verdosa,

que se separó magnéticamente y fue lavada de la misma manera que se describió anteriormente. Como se muestra en el diagrama de bloques de la figura 2.6

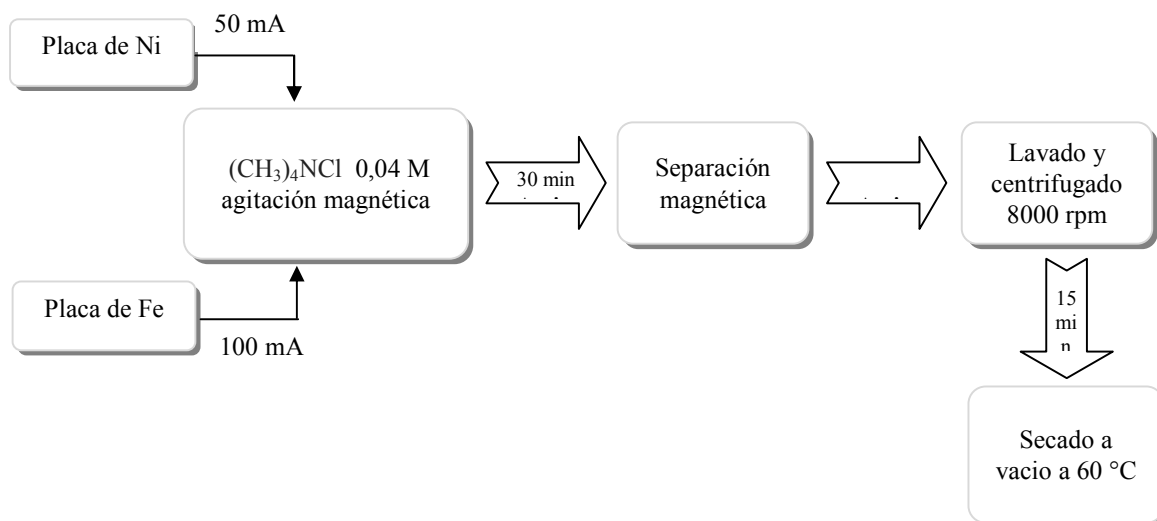


Figura 2.6. Diagrama de bloques de la síntesis electroquímica de ferrita de níquel.

2.4 Síntesis por sono-electroquímica

La sonoquímica ha sido utilizada para la generación de materiales nanométricos con aplicaciones en diferentes áreas, por las propiedades específicas que le confiere esta síntesis. Recientemente se ha observado el potencial de combinar la electroquímica con la sonoquímica, para aprovechar las propiedades que aportan de manera individual cada técnica, para preparar nanomateriales ^[9]. La aplicación de ultrasonido a los procesos electroquímicos, comenzó en 1930 ^[10], sin embargo, fue hasta los 1990s cuando el uso de la sonoelectroquímica se popularizó ^[11]. Los diferentes efectos que se producen al aplicar ultrasonido sobre los procesos electroquímicos, se deben a la generación, crecimiento y colapso de microburbujas en el electrolito ^[12]. Si la cavitación ocurre cerca de la superficie del electrodo, un flujo de líquido penetra en la burbuja perpendicular a la superficie del

electrodo, lo que favorece el desplazamiento de un microchorro del líquido hacia la superficie ^[13]. Cuando la intensidad del ultrasonido es alta, el colapso de las burbujas es asociado con las ondas de choque ^[14]. Todos estos fenómenos ocasionan la dismución de la capa de difusión, mejoran el transporte de masa, e incrementan las velocidades de reacción, así como la limpieza y degasificación sobre la superficie del electrodo ^[15, 16]. La síntesis por sonoelectroquímica se ha utilizado principalmente para la generación de nanopartículas de oro y plata y algunos otros metales preciosos, sin embargo recientemente ha surgido el interés de aplicar esta técnica en la remediación ambiental, debido a la generación de radicales libres en la solución ^[17, 18].

Existen diferentes formas de introducir los ultrasonidos a los sistemas electroquímicos. El primero y más simple consiste en introducir una celda electroquímica convencional en un baño de ultrasonido ^[12]. Pero en este dispositivo la cavitación transmitida a la celda electroquímica es baja y los resultados dependen de la posición de la celda, porque la distribución del campo de ultrasonido no es homogéneo ^[19]. Otro método consiste en introducir el sistema de ultrasonido directamente en el dispositivo electroquímico. Esta es la configuración más comúnmente utilizada, los electrodos y la fuente de ultrasonido están inmersos en la misma disolución, de manera que la emisión del ultrasonido tiene lugar cara a cara a una cierta distancia de la superficie del electrodo ^[12]. Este sistema es más eficiente, pues el ultrasonido incide directamente sobre la superficie del electrodo. Por último otra metodología aunque menos utilizada pero muy prometedora, es la de convertir la fuente de ultrasonido en el electrodo de trabajo o sonoelectrodo ^[12, 20]. Este dispositivo o sonoreactor fue utilizado por primera vez por Reisse y col ^[21]. En este método

la aplicación de un potencial o corriente sobre el sonelectrodo se combina de forma alterna con la onda ultrasónica, así una vez generadas las nanopartículas electroquímicamente sobre la superficie del electrodo, éstas son expulsadas del electrodo a la disolución por medio de la aplicación de una onda.

2.4.1 Desarrollo experimental para la síntesis sono-electroquímica: La síntesis sono - electroquímica se llevó a cabo con ligeras variantes con respecto a la síntesis electroquímica descrita anteriormente. De las diferentes metodologías señaladas anteriormente, en nuestro caso se utilizó un reactor con un piezoelectrico en la parte inferior de este, los electrodos fueron sumergidos en el interior del reactor y se les aplicó la corriente. La disposición de los ánodos y cátodo, así como las corrientes aplicadas a cada uno permaneció constante. Sin embargo, se sustituyó la agitación magnética por la cavitación del equipo de ultrasonido, de manera que la solución de reacción 0.04 M de cloruro de tetrametil amonio se colocó dentro del reactor de ultrasonido Hielscher Ultrasonic Processor UP200S, 200 watts, que se termostató a 60 °C para mantener las mismas condiciones de temperatura y presión que en la síntesis sonoquímica descrita en el apartado 2.4. La reacción se mantuvo durante 30 minutos a una frecuencia de ultrasonido de 1040 kHz. Transcurrido este tiempo, se obtuvo una solución oscura ligeramente verdosa. Que se trata según se muestra en el esquema de la figura 2.7.

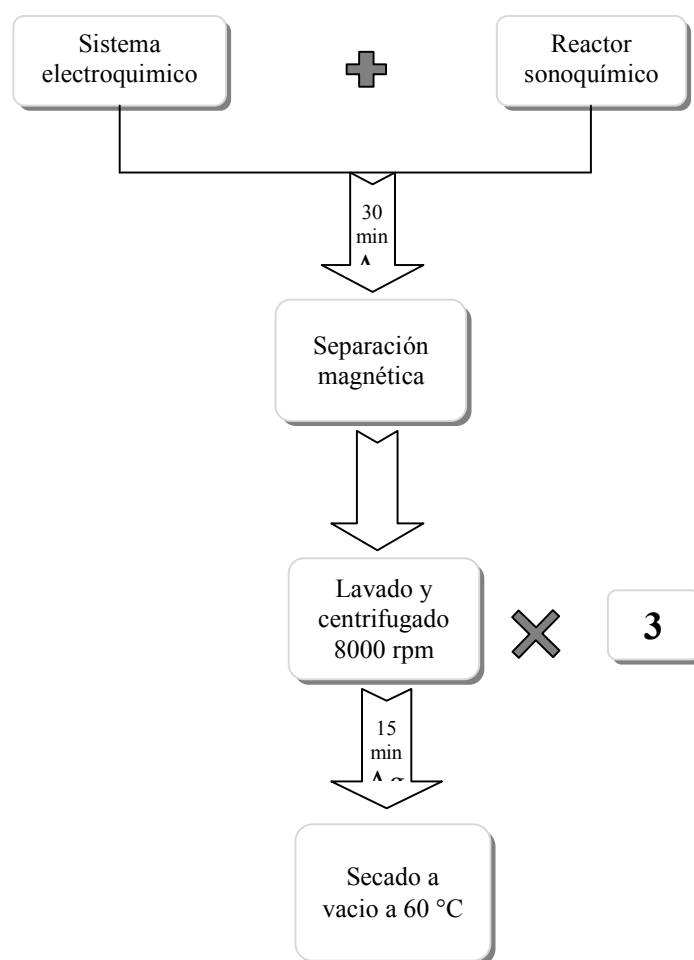


Figura 2.7. Diagrama de bloques para la síntesis sonoelectroquímica y tratamiento posterior para obtener ferrita de níquel.

TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS

La caracterización del material obtenido se realizó por diferentes técnicas, cuyo fundamento y parámetros que pueden extraerse de las mismas se indican a continuación.

2.5.1 Difracción de Rayos X (XRD).

La técnica de difracción de rayos-X se empleó para estudiar la cristalinidad, la pureza y la estructura de las nanopartículas sintetizadas. Esta técnica permite también determinar el parámetro de red del sistema cristalino y estimar el tamaño medio de cristal.

2.5.1.1 Fundamento teórico

Los rayos-X son una forma de radiación electromagnética con longitud de onda entre los 10 y 0.01 nm, apareciendo en el espectro electromagnético entre los rayos γ y el ultravioleta.

La difracción de rayos X es un fenómeno físico que se produce al interaccionar un haz de rayos X de una determinada longitud de onda, similar al de la distancia interatómica, con una sustancia cristalina. Se basa en la dispersión coherente del haz por parte de la materia y en la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio. El modelo más sencillo que permite explicar la difracción de rayos-X fue establecido por Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (2.9)$$

Donde λ es la longitud de onda de la fuente de rayos X, θ es el ángulo que forman el haz incidente y los planos del cristal, n es un número entero y d es la distancia entre los planos cristalinos (figura 2.8). Por ello, el diagrama de difracción (difractograma) de una sustancia

es característico de la disposición u ordenamiento de los átomos que la componen y la señal de difracción la huella de su estructura.

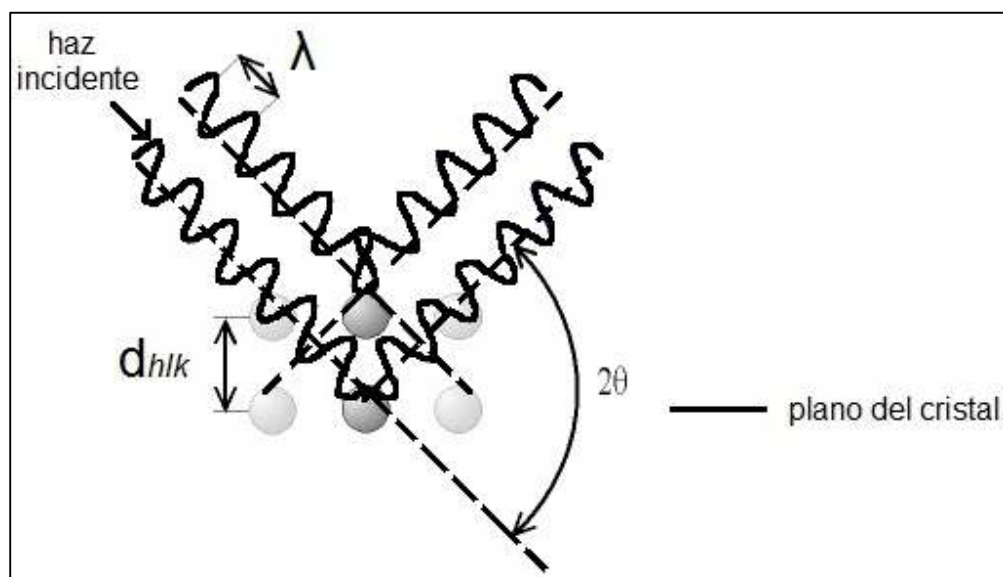


Figura 2.8. Difracción de los rayos X por los planos de un cristal de acuerdo con el modelo de Bragg.

En muestras multi-fásicas la intensidad relativa del difractograma es función de la concentración de las diferentes fases presentes. La comparación de los difractogramas experimentales con los patrones de difracción registrados en las diferentes bases de datos, permiten llevar a cabo la identificación de las fases cristalinas existentes en la muestra.

El tamaño cristalino de las partículas d , se calculó utilizando la ecuación de Scherrer:

$$d = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (2.10)$$

Donde, d es el tamaño medio del cristal en la dirección perpendicular de los planos (hkl), K es un factor de forma del cristal, que para este caso en particular tiene un valor de 0.9, λ

es la longitud de onda de la radiación, β es la anchura de pico a la altura media y Θ es el ángulo del pico.

A través de esta técnica, también se puede calcular el parámetro de celda unidad, que se define por las direcciones y los módulos de los vectores de traslación **a**, **b** y **c** que a su vez definen los ejes cristalográficos. Entonces, para describir una celdilla unidad se necesita conocer las longitudes *a*, *b* y *c* y los ángulos α , β y γ que forman entre sí los tres vectores; estas seis magnitudes reciben el nombre de parámetros de celdilla, parámetros cristalográficos o parámetros de red como se ve en la figura 2.9 ^[22].

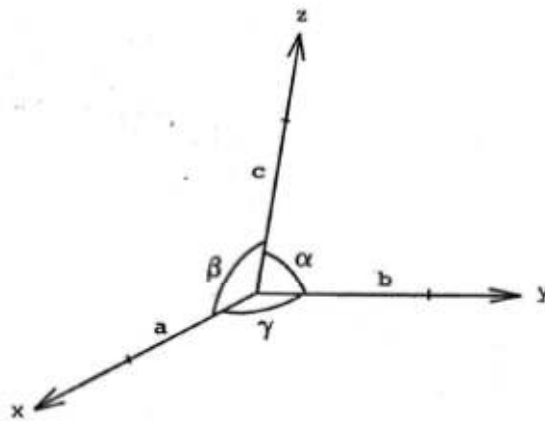


Figura 2.9. Parámetros cristalográficos.

Para todo tipo de red se conoce su listado de planos, ordenados por índices de Miller crecientes o, en forma equivalente, por distancias interplanares decrecientes. Para el caso de una estructura cúbica se emplea la siguiente fórmula:

$$d_{hkl} = \frac{a}{(h^2 + l^2 + m^2)^{1/2}} \quad (2.11)$$

Donde d , es el espaciado de la familia de planos, a es la relación axial y $(h\ k\ l)$ son los índices de Miller, que determinan la posición y orientación de cada familia de planos respecto a los ejes cristalográficos. Al ser λ y Θ parámetros conocidos, la obtención de d_{hkl} es inmediata. Como cada compuesto cristalino posee un conjunto de espaciados característicos, correspondientes a las distancias interplanares de su celda unitaria, su conocimiento permite distinguir unos compuestos de otros ^[22].

2.5.1.2 Equipo y preparación de la muestra

El estudio de la ferrita de níquel obtenida se llevó a cabo en un Difractómetro Siemens D-5000, con geometría $\Theta/2\Theta$, que se muestra en la figura 2.10. Empleando una radiación $\text{CuK}\alpha$ con $\lambda=1.54060\ \text{\AA}$, equipado con un detector SOL-X Bruker (detector de Si(Li) de dispersión de energías) adecuado para muestras que presentan fluorescencia ^[6, 23, 24].



Figura 2.10 Difractómetro *Siemens D-5000*, con geometría $\Theta/2\Theta$.

El barrido se realizó de 5 a 80 °/2 θ a un paso de 0.04 ° (2 θ) en un tiempo de 8 s. El análisis de los difractogramas se llevó a cabo con ayuda del programa WinPLOTR que se basa en el método Rietveld ^[25, 26] y con el XPER para el análisis de las fases presentes. Para el análisis se empleó en promedio 20 mg de muestra sólida, seca en forma de polvo.

2.5.2 Espectroscopia de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Con esta técnica es posible obtener la cantidad de Fe y Ni, presente en cada una de las muestras.

2.5.2.1 Fundamento teórico

Los componentes de la muestra a analizar son ionizados por efecto de un plasma de argón. Estos iones producidos serán separados en base a su relación masa/carga en un espectrómetro de masas y posteriormente cuantificados por un detector multiplicador de electrones. Esta técnica tiene una amplia aplicación en la determinación de elementos, pudiendo analizar más de 70 elementos de forma simultánea ^[27, 28]. Un esquema del funcionamiento de un analizador ICP-masas se muestra en la figura 2.11.

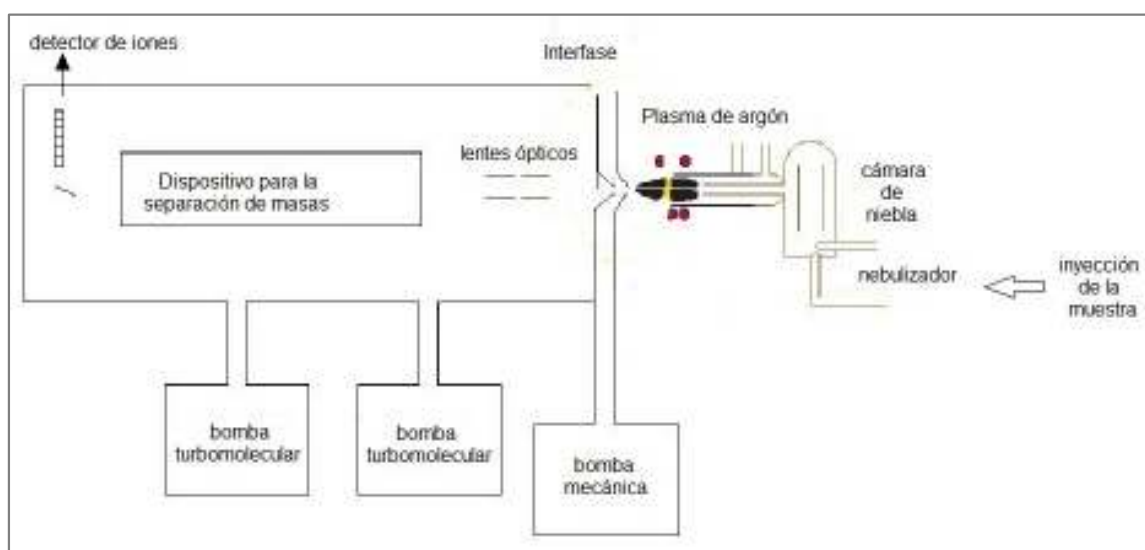


Figura 2.11. Diagrama de funcionamiento del analizador ICP-MS

2.5.2.2 Equipo y preparación de la muestra

El análisis se realizó en un espectrofotómetro de emisión de plasma acoplado Perkin Elmer modelo Optima 2100 DV system con analizador Elemental CNHS PERKIN ELMER 2400.

Para realizar el análisis se disolvió 1mg aproximadamente de la ferrita de níquel en 3 ml de ácido clorhídrico concentrado (97 % puro Sigma) en un tubo de ensayo, se colocó en el baño de ultrasonido por 5 minutos, para disolver completamente. Una vez disuelto se aforó con agua destilada hasta 25 mL. Para la determinación de los diferentes elementos, la muestra fue comparada con la curva de calibración para patrones de concentración conocida de hierro y níquel.

2.5.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La caracterización mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM) nos permite determinar la distribución de tamaños, la dispersión y la geometría de las nanopartículas obtenidas.

2.5.3.1 Fundamento teórico

En esta técnica, un haz de electrones son acelerados a una gran velocidad después de aplicarles una elevada diferencia de potencial que puede oscilar entre 80 y 600 KeV, este haz es dirigido y focalizado por las lentes condensadoras hacia la rejilla donde está depositada la muestra. Cuando los electrones interactúan con la muestra una parte de ellos chocan y rebotan, mientras que otros atraviesan la muestra formando una imagen. La imagen formada es aumentada y proyectada sobre una pantalla fluorescente para su visualización en tiempo real. Un esquema del microscopio de transmisión se presenta en la figura 2.12 ^[23].

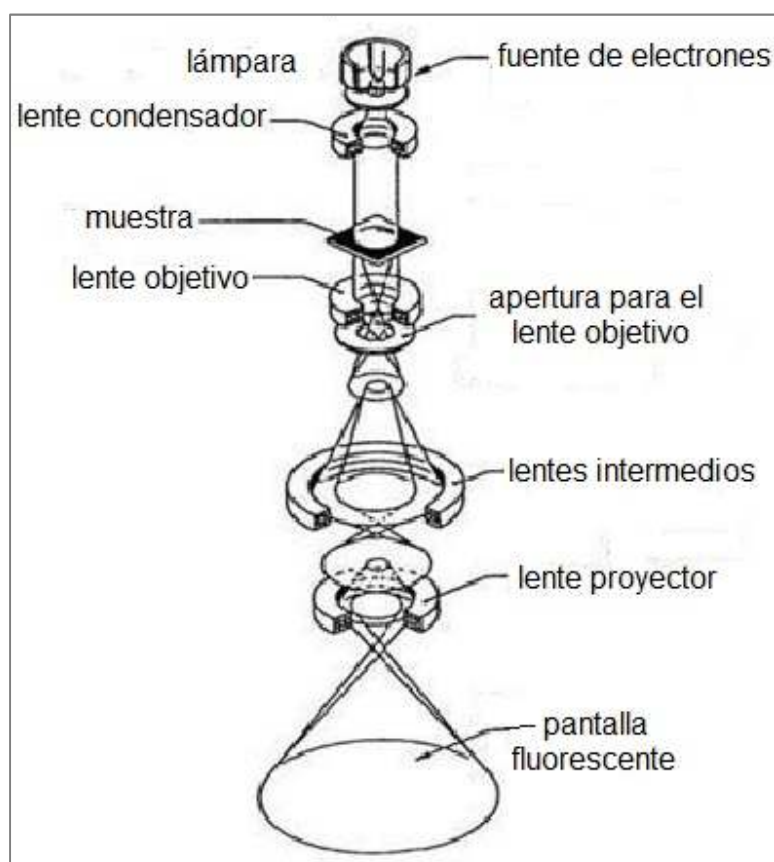


Figura 2.12 Esquema de los componentes y funcionamiento del Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).

2.5.3.2 Equipo y preparación de la muestra

El análisis se realizó en un Microscopio Electrónico de Transmisión 200 kV Philips Tecnai 20 con 0.27 nm de resolución y $\pm 70^\circ$ de inclinación de la muestra.

Para la realización del análisis, se dispersó 1 mg de la ferrita de níquel en 3 mL de etanol (98% Merck) en un tubo de ensayo, sonicando durante 10 minutos. Una vez bien disperso, se tomó una gota y se colocó cuidadosamente sobre la rejilla de cobre especial para TEM, se dejó evaporar el disolvente en condiciones ambientales durante 12 horas. La rejilla así preparada se introdujo en el microscopio.

2.5.4 Espectroscopia Infrarroja (IR)

Esta técnica permite determinar los grupos funcionales de una molécula y que tipos de enlace existen.

2.5.4.1 Fundamento teórico

La radiación infrarroja interacciona con los sistemas materiales modificando su energía vibracional lo que hace posible la caracterización de los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto. En la figura 2.13 se presenta un esquema del funcionamiento de un espectrofotómetro infrarrojo ^[23].

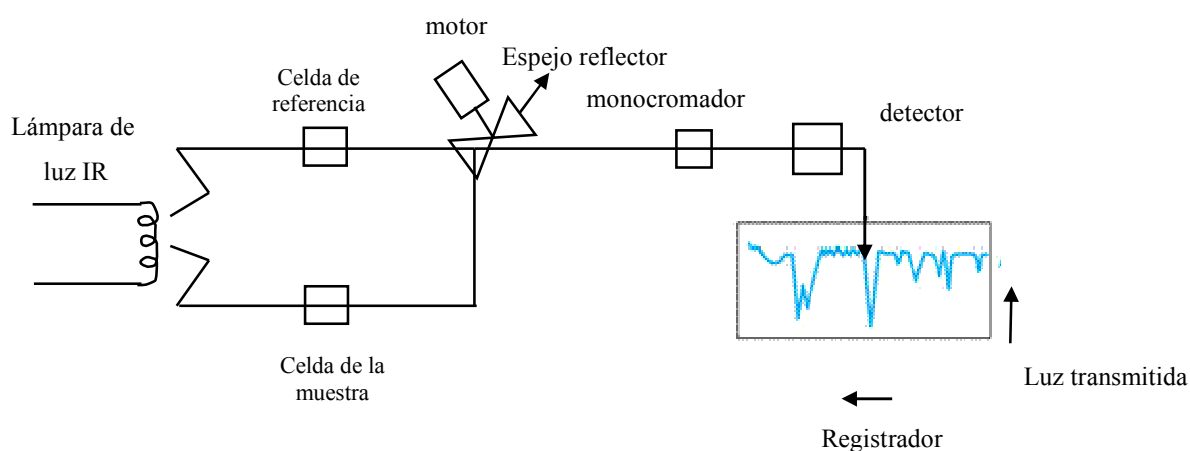


Figura 2.13 Esquema del funcionamiento de un espectrofotómetro infrarrojo (IR).

2.5.4.2 Equipo y preparación de la muestra

El análisis de las muestras de ferrita de níquel se realizó en un Espectrómetro FT-IR Bruker IFS66v. El equipo funciona bajo vacío para eliminar interferencias atmosféricas y

proporcionar una alta sensibilidad. El equipo cuenta con un detector MCT: para medidas de rango espectral de $7000 - 560 \text{ cm}^{-1}$ (IR medio).

Para evaluar el material se necesitarón aproximadamente 20 mg de cada muestra con la que se hace una pastilla en una prensa hidráulica manual, de 10 toneladas de presión máxima y como referencia se utilizó una pastilla de KBr transparente al infrarrojo.

2.5.5 Espectroscopia Mössbauer

La espectrometría Mössbauer ha sido utilizada para obtener información sobre el estado químico y magnético de las formas de hierro presentes en las muestras generadas. En este caso nos permite determinar el estado de oxidación del hierro, la estructura cristalina de las fases presentes, así como la proporción de las mismas.

2.5.5.1 Fundamento teórico

Esta técnica esta basada en la emisión y la absorción resonante de rayos gamma en sólidos. La espectroscopía Mössbauer (MS), es una técnica altamente sensible, en terminos de resolución de energía, tiene la capacidad de detectar cambios de apenas algunas partes por 10^{11} eV. Por ello permite determinar el entorno local alrededor del nucleo resonante, en este caso ^{57}Fe , aún cuando la cristalinidad de los materiales no permita su análisis por XRD. La muestra se expone a radiación gamma de 14.4 KeV, y un detector mide la intensidad de la radiación del rayo transmitido a traves de la muestra. La energía de la radiación es variada con el efecto Doppler acelerándolo a traves de un rango de velocidades con un motor líneal, lo que permite establecer la condición de resonancia

entre la radiación y el núcleo absorbente. Un rango típico de velocidades para el Fe puede ser ± 11 mm/s ($1 \text{ mm/s} = 48.075 \text{ neV}$). En los espectros resultantes, la intensidad del rayo gamma es trazada como una función de la velocidad de la fuente. En las velocidades correspondientes a los niveles de energía resonante de la muestra, algunos de los rayos gamma son absorbidos por los núcleos de ^{57}Fe . El número, las posiciones y las intensidades de los picos de adsorción proporcionan la información sobre el ambiente químico de los núcleos absorbentes ^[6, 29].

2.5.5.2 Equipo y preparación de la muestra

El análisis se realizó a temperatura ambiente en modo triangular en un espectrómetro convencional con una fuente Co(Rh). El espectro fue analizado con un ajuste no-lineal, utilizando el programa NORMOS ^[30]. Para el análisis se requieren aproximadamente 30 mg de ferrita sólida en forma de polvo, sin ningún tratamiento adicional.

2.5.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Mediante esta técnica fue posible estudiar la estabilidad térmica a altas temperaturas de los materiales sintetizados. Evaluar si existen procesos de oxidación o desorción que puedan alterar la estructura y composición de la ferrita.

2.5.6.1 Fundamento teórico

El análisis termogravimétrico es una técnica que mide la variación de masa en un compuesto en función de la temperatura. Mediante esta técnica es posible determinar la

cantidad y la velocidad de cambio de peso de una muestra en función de la temperatura y/o del tiempo en una atmósfera controlada. Las variaciones de temperatura no siempre implican un cambio en la masa de la muestra; existen sin embargo, cambios térmicos que si se acompañan de un cambio de masa, como la descomposición, la sublimación, la reducción, la desorción y la vaporización. Estos cambios pueden ser medidos con el analizador termogravimétrico. Principalmente se emplea para determinar la estabilidad térmica de los materiales, su estabilidad frente a la oxidación, la composición de un sistema múltiple, estudio de vida media de diversos productos, estudio de descomposición cinética, efecto de atmósferas reactivas y/o corrosivas en distintos materiales, contenido de humedad y/o volátiles en distintos materiales, entre otros.

El equipo termogravimétrico se ilustra en la figura 2.14, consta de una balanza analítica muy sensible para registrar pequeñas variaciones del peso de la muestra, un horno que es el lugar donde se lleva a cabo el calentamiento de la muestra a una velocidad controlada, un sistema de gas de purga que proporciona una atmósfera inerte o reactiva y un microprocesador que controla el instrumento en todo momento y adquiere y visualiza los datos.

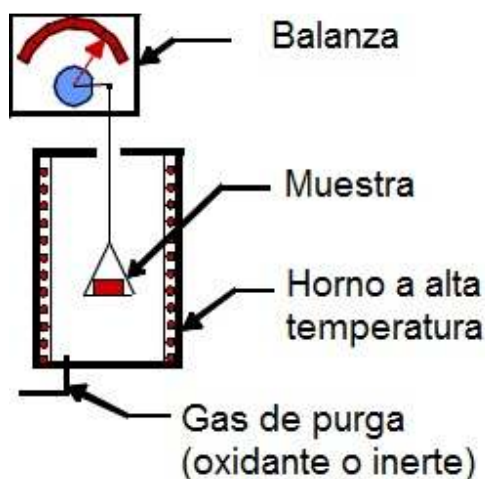


Figura 2.14 Componentes comunes para el análisis termogravimétrico (TGA).

2.5.6.2 Equipo y preparación de la muestra

Los estudios que se realizan con dicha técnica se llevaron a cabo, con velocidades de calentamiento de 50 °C/ min entre 0.1 y 1000 °C en atmosfera de N₂. El análisis se realizó en una termobalanza TA Q-500, con una cantidad aproximada de 20 mg de muestra sólida de ferrita de níquel en forma de polvo.^[23]

2.5.7 Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS)

La espectroscopía de fotoelectrones emitidos por Rayos-X provee información sobre la estequiometría, el estado químico y la estructura electrónica de todos los elementos que están presentes en la muestra en concentraciones mayores al 0.1% atómico (a excepción del H y el He) con un error aproximado de 10%.

2.5.7.1 Fundamento teórico

Los espectros XPS son obtenidos cuando una muestra es irradiada por rayos X (el ánodo suele ser de Al o Mg), absorben dicha radiación y emiten fotoelectrones, al tiempo que se mide la energía cinética y el número de electrones que escapan de la superficie del material analizado. Para una medición XPS se requieren condiciones de ultra-alto-vacio, debido a que a presiones mayores la tasa de adsorción de contaminación sobre la muestra puede ser del orden de varias monocapas atómicas por segundo, impidiendo la medida de la superficie que realmente se quiere analizar. El XPS resulta una poderosa técnica no destructiva, sensible únicamente a las primeras capas de la superficie de los sólidos (20-30 Å), lo que permite obtener información sobre las propiedades químicas, físicas y electrónicas de las mismas. Un esquema del fundamento de la técnica se presenta en la figura 2.15.

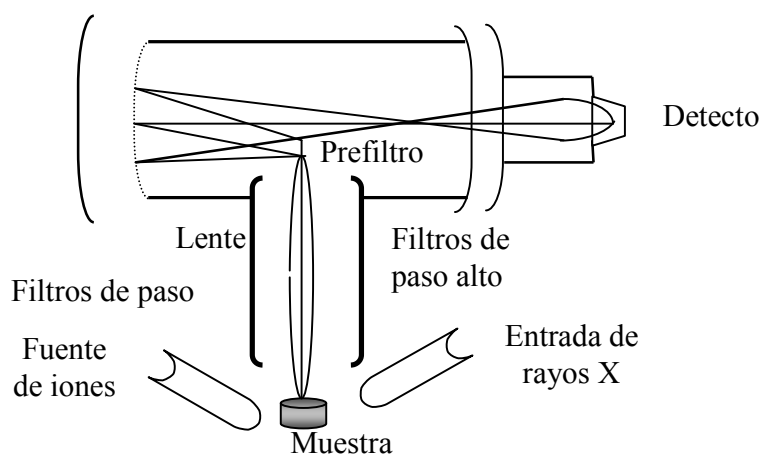


Figura 2.15 Diagrama de los componentes y funcionamiento de un espectrofotómetro de fotones por rayos X (XPS).

2.5.7.2 Equipo y preparación de la muestra

El análisis de las muestras, para esta técnica se realizó en un espectrofotómetro CLAM-4 MCD con sistema analizador hemisférico (Thermo VGScientific, 9-channeltron system) y una fuente de doble ánodo (número de modelo XR3E2 con radiaciones Al $K\alpha$ y Mg $K\alpha$ en una cámara UHV (presión de 3×10^{-10} mbar).

Para los espectros de fotoemisión se utilizó un ánodo de Mg $K\alpha$, con una energía de paso de 20 eV. La resolución total de energía estimada (energía de rayos X + analizador) fue alrededor de 0.9 eV. La escala de energía se calibró, ajustando la línea principal de los espectros de XPS de C a 284.85 eV.

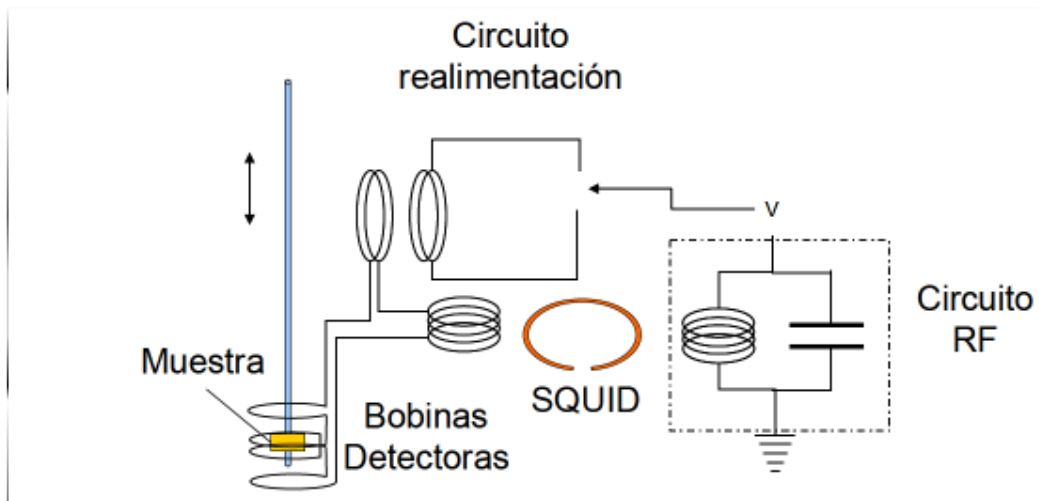
Previo al análisis, las nanopartículas se prensaron en forma de discos, que fueron introducidos en una cámara de vacío conectada al XPS (con una presión de 1×10^{-8} mbar). Posteriormente se calentaron a 170 °C durante 3 horas para eliminar el agua adsorbida en la superficie de las nanopartículas.

2.5.8 Curvas de magnetización

Mediante las curvas de magnetización es posible determinar las propiedades magnéticas principales de los materiales. Algunos de los principios fundamentales del magnetismo se explican en el capítulo 1.

2.5.8.1 Fundamento teórico

El mecanismo de medida se basa en la detección de los cambios del flujo magnético. Estos cambios se pueden utilizar para medir cualquier propiedad física relacionada con el flujo (campo magnético, corriente, voltaje, susceptibilidad magnética, etc.). El sistema de detección consta de cuatro espiras de hilo superconductor conectadas en serie-oposición dos a dos a lo largo de una longitud de 3 cm. La muestra se mueve hacia arriba y abajo a través de estas cuatro espiras gracias a un mecanismo transportador como puede observarse en el esquema 2.16. La amplitud de movimiento de la muestra es de 5 cm. Mientras el portamuestras se desplaza por las bobinas, se mide la respuesta del SQUID ^[31].



2.16 Esquema del proceso de medida del magnetómetro SQUID.

2.5.8.2 Equipo y preparación de la muestra

Para la obtención de las curvas de magnetización de los materiales sintetizados en este trabajo, se empleó un magnetómetro SQUID de Quantum Design, modelo MPMS. Este

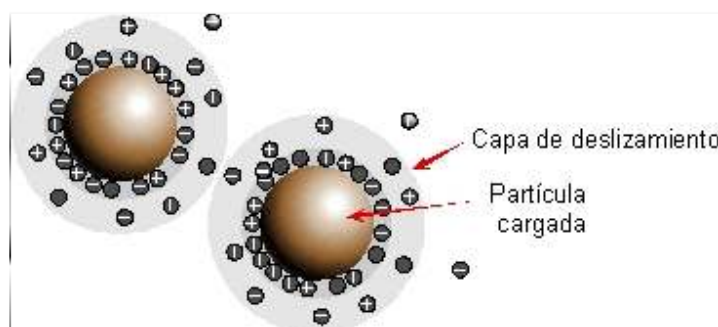
equipo permite realizar medidas a temperatura que varían desde 1.7 K a 400 K. El campo magnético está generado por una bobina superconductora que crea un campo máximo de 5.5 T. La sensibilidad del momento magnético es del orden de 10^{-7} emu.

2.5.9 Propiedades coloidales.

Aunque no es el objetivo de esta tesis producir ferrofluidos y medir sus propiedades, si es interesante conocer las propiedades que estas partículas pueden tener cuando son estabilizadas en una disolución. Dentro de este concepto, existen dos parámetros importantes para estudiar: el potencial Z y el radio hidrodinámico.

2.5.9.1 Potencial Z. Fundamento teórico.

La diferencia de potencial que existe entre un punto de la superficie de la partícula y un punto en la superficie de la bicapa eléctrica que se forma con el medio es lo que se define como potencial Z. El modelo de la bicapa se puede observar en la figura 2.17.



2.17 Modelo de la bicapa eléctrica para explicar la distribución de cargas alrededor de las partículas

El potencial Z es uno de los parámetros conocidos que afectan la estabilidad de las soluciones coloidales. Esta medida proporciona una idea detallada de los mecanismos de

dispersión, agregación o floculación y puede aplicarse en la formulación de dispersiones, emulsiones y suspensiones. La carga o potencial Z se determina midiendo la velocidad con la que las partículas se mueven, al aplicar un campo. La velocidad con la que se mueve es proporcional a la intensidad del campo y a su potencial Z.

2.5.9.2 Equipo y preparación de la muestra

La medida del potencial Z y determinación del punto isoeléctrico se realizó en un Malver Instrument Zetasizer Nano ZS. Este equipo hace dos medidas para la determinación del potencial Z, una en la que el campo está siendo invertido rápidamente, denominada FFR (Fast Field Reversal) y otra en la que el campo es invertido lentamente, denominada SFR (Slow Field Reversal), consiguiendo por un lado robustez con la medida FFR y por otro lado permite determinar con precisión la distribución de movilidades presentes en la muestra. Con este sistema es posible determinar la movilidad de la partícula haciendo una comparación de fase entre la señal detectada (luz dispersada por la partícula) y la señal de referencia, que en este caso pasa por fuera de la célula de medida. Para realizar el análisis se diluyeron 5 mg de ferrita de níquel en 25 ml de una solución de nitrato de potasio KNO_3 (Panreac Química) 10^{-2} M. A partir de esta solución se tomaron 5 muestras, que se ajustaron a diferentes valores de pH, entre 3 y 11, los valores de pH de cada alícuota se ajustaron con HNO_3 o KOH según fuera el caso. Se colocó 1 mL de alícuota en la celda para cada análisis.

2.5.9.3 Radio hidrodinámico. Fundamento teórico.

Esta técnica se basa en el principio de que las moléculas y partículas finas están en constante movimiento térmico aleatorio, lo que se conoce como movimiento Browniano, en el que cada partícula difunde de acuerdo a su tamaño, las partículas pequeñas difunden más rápido que las de mayor tamaño. La velocidad de movimiento Browniano depende también de la temperatura, por lo tanto el control de dicho parámetro es esencial para realizar una buena medida del tamaño de partícula. El radio hidrodinámico es una propiedad que debe ser estudiada para determinar la estabilidad de las emulsiones sobre todo para aplicaciones médicas.

2.5.9.4 Equipo y preparación de la muestra

Este parámetro se obtuvo usando un Malvern Instrument Zetasizer Nano ZS. Su funcionamiento se basa en el principio del Dynamic Light Scattering (Dispersión Dinámica de Luz) o también conocida como Espectroscopia de Correlación de Fotones, que se basa en la capacidad de difusión de pequeñas partículas sometidas a movimiento Browniano. Este equipo es capaz de determinar valores de entre 0.3 nm a 10 μm de diámetro, utilizando un volumen de muestra de 12 μL . Para este análisis se dispersaron 2 mg de ferrita de níquel en 20 mL de agua desionizada, para una mejor dispersión se colocó en ultrasonido por aproximadamente 2 horas.

2.6 Referencias del capítulo

- [1] H-I. Hsiang, R-Q. Yao, Mater. Chem. Phys., **104** (2007) 1–4.
- [2] A. A. Kamneva, M. Ristic, J. Molec. Structur., **408/409** (1997) 301-304.
- [3] C-L Huang, E. Matijevic, Solid State Ionics, **84** (1996) 249-258.
- [4] R. Dehghan, S.A. Seyyed Ebrahimi, A. Badiei, J. Non-Crystalline Solids, **354** (2008) 5186 – 5188.
- [5] L. Cabrera, S. Gutiérrez, P. Herrasti, D. Reyman., Physics Procedia, **3** (2010) 89–94.
- [6] L. Cabrera, Tesis Doctoral, Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas de magnetita. Generación de materiales híbridos. (2008).
- [7] P. E. Meskin, V. K. Ivanov, A. E. Barantchikov, B. R. Churagulov, Y. D. Tretyakov, Ultrason. Sonochem. **13** (2006) 47–53
- [8] L. Cabrera, S. Gutiérrez, N. Menendez, M.P. Morales, P. Herrasti, Electrochim. Acta., **53** (2008) 3436–3441.
- [9] J-J Zhu, Q-F Qiu, H. Wang, J-R Zhang, J-M Zhu, Z-Q Chen, Inorganic Chemistry Communications, **5** (2002) 242–244.
- [10] N. Moriguchi, J. Chem. Soc. Jpn. **55** (1934) 749–750.
- [11] D.J Walton. ARKIVOC. **iii** (2002) 198–218.
- [12] R.G.Compton, J.C. Eklund, F. Marken, Electroanalysis. **9** (1997) 509–522.
- [13] T.J. Mason, Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry. Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1989; p. 5.
- [14] P.R. Birkin, D.G. Offin, P.F. Joseph, T.G. Leighton. J. Phys. Chem. B. **109** (2005) 16997–17005.

- [15] T.J. Mason, J.P. Lorimer, D.J. Walton. *Ultrasonics* **28** (1990) 333–337.
- [16] T.J. Mason. *Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry*. Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK (1989) p.136.
- [17] S. Kumbhat. *Electrochem.* **16** (2000) 29–32.
- [18] J.P. Lorimer, T.J. Mason, M. Plattes, S.S. Phull, D.J. Walton. *Pure Appl. Chem.* **73** (2001) 1957–1968.
- [19] C. Brett, *Sonoelectrochemistry*. In *Piezoelectric Transducers and Applications*; Arnau, A., Ed.; Springer-Verlag: Heidelberg, Berlin, Germany, 2008; Chapter 15, pp. 399–411.
- [20] V. Sáez, T.J. Mason, *Molecules* **14** (2009) 4284–4299.
- [21] J. Reisse, H. Francois, J. Vandercammen, O. Fabre, A. Kirsch-de Mesmaeker, C. Maerschalk, J.L. Delplancke. *Electrochim. Acta* **39** (1994) 37–39.
- [22] J.M Albella, A. M. Cintas, T. Miranda, J.M. Serratosa, *Introducción a la ciencia de materiales*, C.S.I.C., 1993.
- [23] www.uam.es/investigacion/servicios/sidi/especifica/policristal.html
- [24] E. Mazario, M.P. Morales, R. Galindo, P. Herrasti, N. Menendez, J. Alloys Compd **536S** (2012) S222– S225.
- [25] J.A. Gomes, M.H. Sousa, F.A. Tourinho, J. Mestnik-Filho, R. Itri, J. Depeyrot., J. Magn. Mater. **289** (2005) 184–187
- [26] R. A. Young, *The Rietveld Method*, Internacional Union Crystallography, Oxford Science Publications, 1995.
- [27] A. Montassser, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Wiley- VCH, Berlín, 1998.

- [28] D.J. Douglas, J.B. French, Spectrochim. Acta Part B: Atomic Spectroscopy, **41** (1986) 197–204
- [29] Mössbauer Spectroscopy. N.N.Greenwod and T.C. Gibb. Editorial Chapman and Hall Ltd. 1971.
- [30] R.A. Brand. Nuclear Instrument Methods in Physics Research. B, 28 (1987) 398
- [31] J. de la Venta Granda, tesis doctoral, Propiedades Magnéticas de nanopartículas de Oro, (2009).

CAPÍTULO 3.

CARACTERIZACIÓN DE FERRITA DE NÍQUEL

Capítulo 3

Caracterización de la ferrita de níquel.

En esta sección se exponen los resultados que corresponden a cada una de las técnicas de caracterización descritas en el capítulo 2 y que fueron aplicadas a las muestras de ferrita de níquel obtenidas por cuatro rutas diferentes, para establecer su composición así como sus propiedades estructurales y magnéticas. Las condiciones para la síntesis se mantuvieron lo más similares posibles, para poder establecer una comparación entre cada uno de los materiales obtenidos, como se mencionó en el capítulo anterior. Sin embargo, en ninguno de los casos se realizó un análisis detallado de los parámetros que afectan directamente a la síntesis, como son pH, temperatura, agitación, corriente aplicada etc. Esto puede considerarse como trabajo alternativo, el estudio de las variables que intervienen en cada ruta de síntesis y la forma en la que influyen en las propiedades finales de las nanopartículas.

3.1 Difracción de rayos X.

La estructura cristalina de las nanopartículas sintetizadas por cuatro métodos fue estudiada mediante difracción de rayos-X. En la figura 3.1 se muestra el patrón de difracción de rayos-X de NiFe_2O_4 (ficha JCPDS-01-087-2335) ^[1].

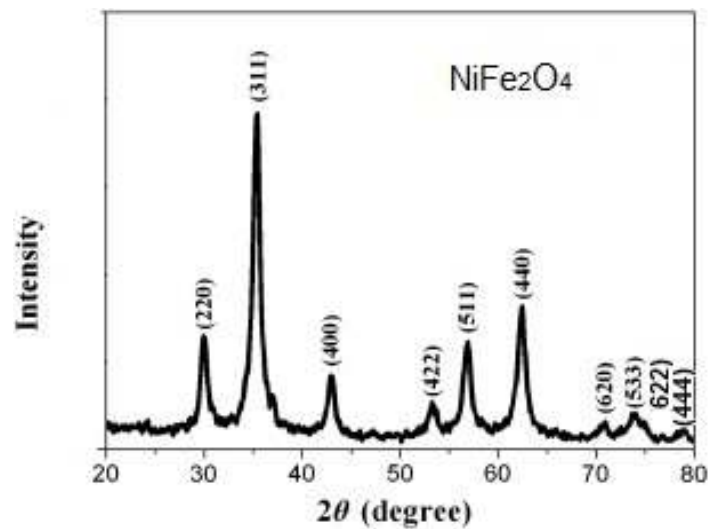


Figura 3.1 Difractograma patrón de ferrita de níquel (ficha JCPDS-01-087-2335)

Las figuras 3.2 a, b, c y d presentan los difractogramas correspondientes a las ferritas de níquel sintetizadas por a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica.

Los difractogramas de las muestras obtenidas por los métodos a y b (figura 3.2) presentan picos anchos mientras que las muestras obtenidas por los métodos c y d, muestran picos finos en el difractograma. La anchura del pico en un difractograma está relacionada con el tamaño de cristal, cuando el pico es muy ancho puede deberse a que se trata de muestras con tamaño muy pequeño de cristal o incluso puede indicar que las muestras sean amorfas. Por otra parte, la presencia de varias fases en el material puede conducir al ensanchamiento aparente de los picos de difracción, como consecuencia del solapamiento de varios de ellos. En nuestro caso ambos factores se combinan en estas muestras. Los picos anchos pueden indexarse como ferritas de níquel, ferrihidritas y oxihidroxidos de hierro ^[2], lo que demuestra la mezcla de compuestos y por lo tanto, el solapamiento de

estos picos en el difractograma, además del pequeño tamaño de cristal del material obtenido ver la sección 3.3.

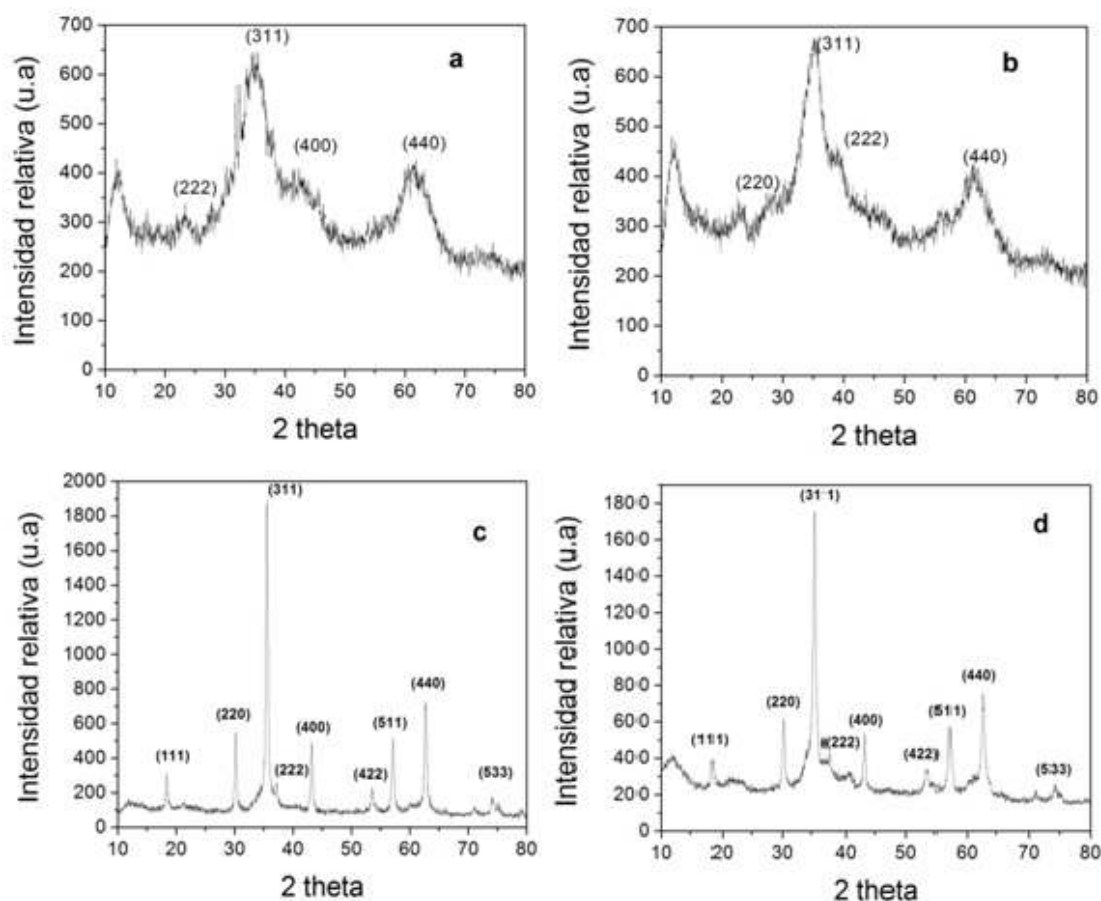


Figura 3.2. Espectros de rayos X de la ferrita de níquel obtenida por cuatro rutas de síntesis. a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica

La indexación de los picos de la muestra obtenida por sonoelectroquímica presenta los picos característicos de la ferrita de níquel, con la salvedad de uno alrededor de 40° en 2θ que ha sido indexado como el plano (140) de un oxihidróxido de hierro (FeOOH) (JCPDS 81-0453) [2]. Por último el difractograma de la muestra obtenida por métodos electroquímicos presenta solo los picos correspondientes a la ferrita de níquel, sin la

aparición de ningún otro pico, como se aprecia en la figura 3.3. Si bien no puede descartarse a priori la presencia de Fe_3O_4 o $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ cuyos patrones de difracción son muy similares ^[1, 3].

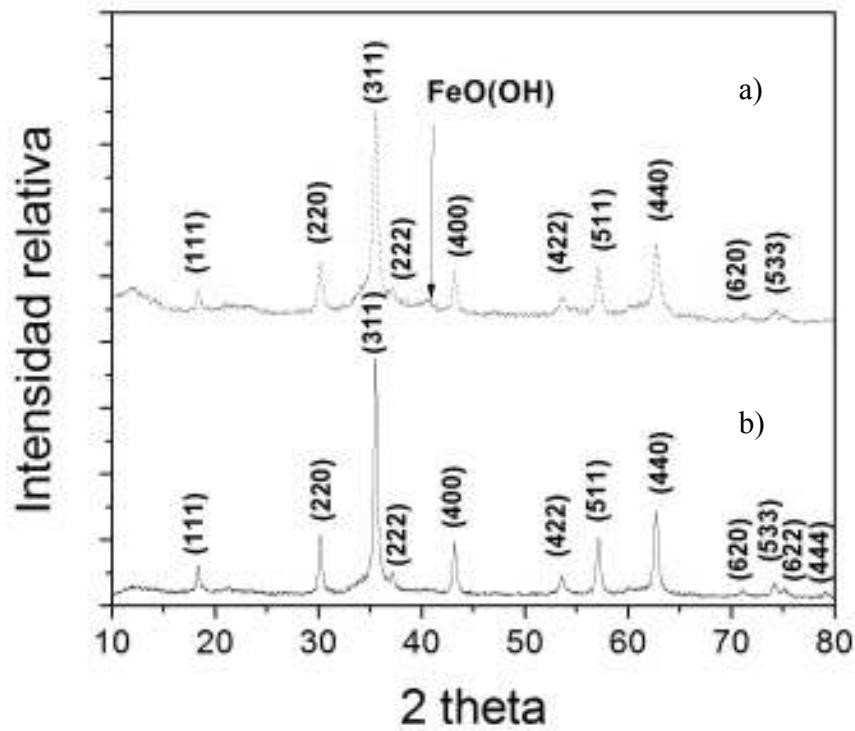


Figura 3.3. Difractogramas de rayos X de la ferrita de níquel obtenida por vía: a) sonoelectroquímica y b) electroquímica

El tamaño medio de cristal se determinó aplicando la ecuación de Scherrer ^[1,3], a partir del pico de mayor intensidad del difractograma de rayos X.

$$D = 0,9 \frac{\lambda}{\beta_d \cos \theta} \quad (3.1)$$

Donde λ es la longitud de onda de los rayos X ($\text{CuK}_{\alpha 1} = 1,5418 \text{ \AA}$), β_d es la anchura a la mitad de la altura del pico de difracción θ y es el ángulo de la posición del pico difracción.

Los valores calculados para las muestras obtenidas por el método electroquímico y sonoelectroquímico se encuentran en la tabla 3.1. Debido a la coexistencia de numerosas fases en las muestras obtenidas por los métodos de coprecipitación y sonoquímica, no se ha podido determinar el tamaño de partícula.

Tabla 3.1. Tamaño de cristal para la ferrita de níquel obtenida experimentalmente calculado a partir del difractograma de rayos X.

MUESTRA	β_d (°)	2θ (°)	D (nm)
a) Electroquímica	0.36	36.6	40
b) Sonoelectroquímica	0.51	37.1	29

En todos los métodos descritos el proceso de formación de nanopartículas se produce en fase acuosa. Dicho proceso tiene lugar mediante dos pasos, uno de nucleación y otro de crecimiento. El proceso de nucleación ocurre cuando la concentración de las especies constituyentes de las nanopartículas alcanza una super saturación crítica. Después se pueden producir tres diferentes mecanismos de formación de partículas ^[3, 4]:

- El núcleo formado crece por difusión de las especies desde el seno de la disolución hasta la superficie del núcleo, obteniéndose un tamaño final.
- Se producen múltiples nucleaciones, a través del método conocido como “Ostwald ripening”, donde pequeños núcleos formados son adsorbidos por núcleos mayores.
- Y por último las partículas pueden formarse más por agregación de pequeñas unidades que por continuo crecimiento debido a la difusión.

El que se produzca un tipo de crecimiento u otro depende mucho de las condiciones de preparación como: temperatura, agitación, pH y tiempo, como las más relevantes. En las condiciones de trabajo que se han realizado, cuando se emplean los métodos de coprecipitación y sonoquímica, parece claro que en el primero de los mecanismos se producen nanopartículas de muy pequeño tamaño, debido a una nucleación máxima ^[5,6]. La formación de intermedios en la reacción es, por lo tanto, también debida a la alta velocidad del proceso y la presencia de oxígeno durante la síntesis dando lugar a la formación de oxihidróxidos e hidróxidos de hierro que no son capaces de reaccionar con el níquel en disolución para dar lugar a la ferrita ^[7]. En el caso de los métodos electroquímicos y sonoelectroquímicos el control de la concentración de especies en disolución es mucho mayor, y aunque pudieran crecer como sucede en los métodos anteriores, pensamos que mediante la síntesis electroquímica y sonoelectroquímica se generan partículas de mayor tamaño, debido a que la generación de los iones es lenta que y que una vez que llegan a su tamaño crítico son rodeadas por el surfactante inhibiendo su posterior crecimiento ^[3, 8]. Los parámetros fundamentales que determinan la variación del tamaño de las nanopartículas formadas son, además de los ya indicados para los métodos anteriores, la corriente que se aplique a los electrodos de trabajo, que produce la generación de los cationes en disolución, hierro y níquel. Adicionalmente se calculó el parámetro de celda unidad del cristal cúbico de la ferrita de níquel sintetizada por el método electroquímico y sonoelectroquímico ^[9]. Los parámetros de red estimados se encuentran en la tabla 3.2 Los parámetros de red muestran valores similares al de la celdilla unidad, típicamente asignada a la ferrita de níquel cuyo valor es de $a = 0.833 \text{ nm}$

^[2], si bien son superiores, especialmente en el material obtenido mediante sonoelectroquímica. Estas diferencias indican que la red está distorsionada, presentando defectos en la misma, especialmente en el caso del material de menor tamaño de partícula.

Tabla 3.2 Parámetros de red de la celda unitaria del cristal para la ferrita de níquel obtenida experimentalmente.

MUESTRA	a (nm)
a) Electroquímica	0.839
b) Sonoelectroquímica	0.855

3.2 Resultados técnica ICP-MS

Los difractogramas mostrados anteriormente indican en algunos casos la formación de especies secundarias además de la ferrita de níquel. Con el fin de determinar la composición y relación Fe/Ni en estas muestras se realizaron análisis por ICP masas de las mismas. Los resultados se muestran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Relación Fe: Ni presentes en la ferrita de níquel obtenida por cuatro metodologías diferentes

Síntesis	Fe (mg/L)	Ni (mg/L)	Fe:Ni
Co-precipitación	$1,64 \times 10^{-4}$	$4,50 \times 10^{-5}$	3,65
Sonoquímica	$1,15 \times 10^{-4}$	$4,66 \times 10^{-5}$	2,47
Electroquímica	$1,69 \times 10^{-4}$	$8,13 \times 10^{-5}$	2,08
Sono-electroquímica	$1,90 \times 10^{-4}$	$9,06 \times 10^{-5}$	2,18

Como se puede observar solo la muestra obtenida por método electroquímico presenta una razón Fe/Ni muy cercana a 2, es decir, presenta una razón casi estequiométrica entre los dos metales, las otras muestras presentan todas ellas exceso de hierro, corroborando que los picos que aparecen en los difractogramas corresponden a estructuras de compuestos de hierro. El método de coprecipitación es el que presenta mayor cantidad de impurezas, este es uno de los principales problemas que presenta este método, ya que no hay un control, ni del tamaño, ni de la composición. Para obtener nanopartículas más puras es necesario hacerlas pasar a través de filtros de diferente tamaño y hacer lavados sucesivos con el fin de eliminar el exceso de hidróxidos de hierro formados. El método sonoelectroquímico, aunque muestra también una cantidad de hierro superior a la esperada, debido a la formación de burbujas de cavitación durante la síntesis, con una alta temperatura en su interior, hace que los hidróxidos formados puedan en parte ser disueltos, disminuyendo la cantidad de los mismos en el producto final obtenido. Nuevamente, aunque el método electroquímico y sonoelectroquímico muestran relaciones cercanas a dos entre el hierro y el níquel, es con el método electroquímico con el que se obtienen los mejores resultados, en las condiciones de trabajo estudiadas.

3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Para conocer la morfología, tamaño y distribución de las nanopartículas obtenidas se llevó a cabo su análisis mediante microscopia de transmisión, para ello se dispersaron en etanol y se añadió una gota sobre una rejilla de cobre, la cual se observó en el microscopio. Las micrografías obtenidas se muestran en la figura 3.4.

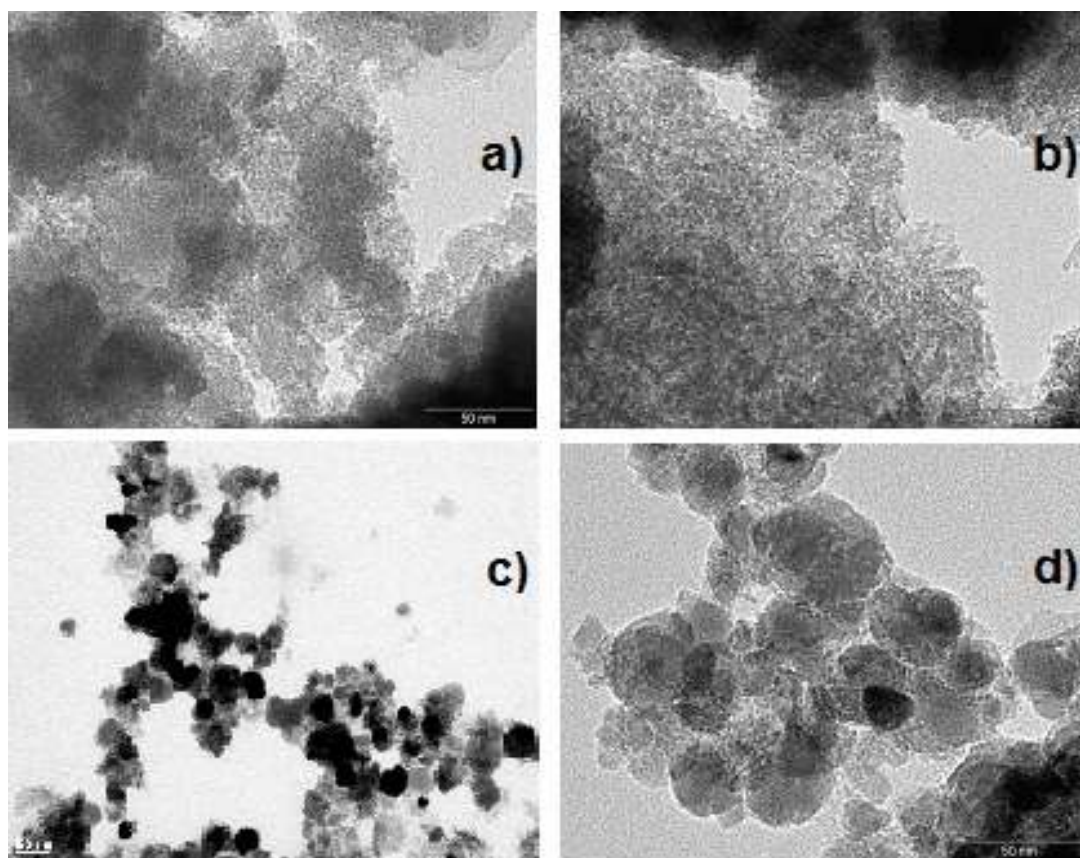


Figura 3.4. Imágenes de TEM comparativas de las diferentes rutas de síntesis de la ferrita de níquel. a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.

Como se puede observar en el caso de las nanopartículas obtenidas por coprecipitación (figura 3.4 a) y sonoquímica (figura 3.4 b) el tamaño es muy pequeño y están bastante aglomeradas, por lo que resulta muy difícil determinar el diámetro y distribución de las mismas. También se observan láminas, que son debidas a compuestos ferrihidríticos. Por el contrario las micrografías de las muestras obtenidas por los otros dos métodos (electroquímico y sonoelectroquímico) muestran partículas esféricas cuyos tamaños son del orden de 40 y 30 nm, respectivamente, en buen acuerdo con los datos obtenidos mediante difracción de rayos-X. Como ya se indicó el tamaño obtenido para las muestras

donde se emplea ultrasonidos es ligeramente menor y esto es debido al incremento de la temperatura local que hace que el crecimiento sea más rápido y que se alcance el tamaño límite de las nanopartículas antes de ser rodeadas por el surfactante en menor tiempo.

La distribución de tamaños de las muestras obtenidas por a) electroquímica y b) sonoelectroquímica se muestran en la figura 3.5. Se midieron 150 nanopartículas. En estos casos es posible determinar la distribución de tamaños, debido a su mayor diámetro y al hecho de que estén menos aglomeradas por la presencia del surfactante. Las nanopartículas obtenidas por vía electroquímica presentan tamaños entre los 10 y 60 nm, aunque el valor promedio de la partícula se encuentra alrededor de los 40 nm (figura 3.5a), corroborando lo que se calculó a partir del difractograma de rayos X. En el caso de la síntesis sonoelectroquímica, las nanopartículas obtenidas presentan una distribución de tamaños más estrecha que en el caso anterior, entre los 12 y 33 nm y el valor promedio se encuentra alrededor de los 23 nm (figura 3.5 b), es decir, son ligeramente de menor tamaño que las obtenidas electroquímicamente. Esto es, como ya se ha comentado, debido a la intensidad de la cavitación y a las altas temperaturas que se alcanzan en el interior de cada burbuja debido a la energía producida por el ultrasonido. Sin embargo, la muestra es difícil de dispersar y las nanopartículas se aglomeran, lo cual dificulta su análisis.

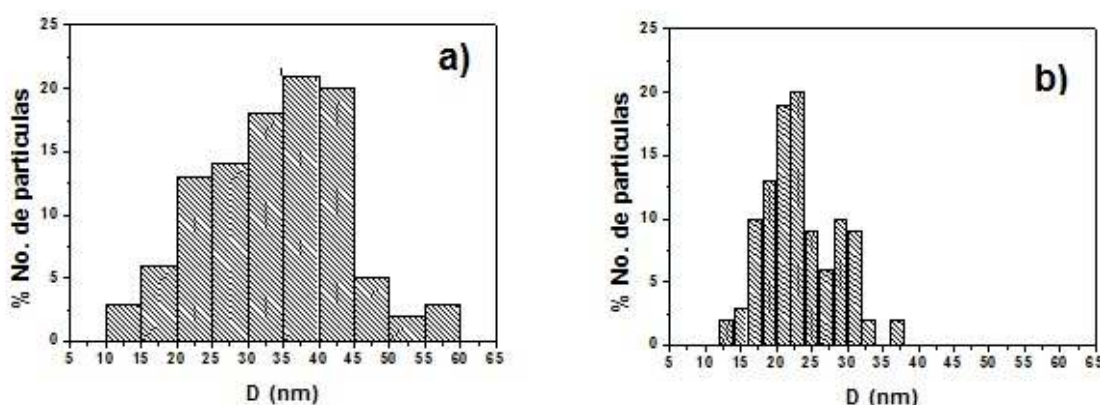


Figura 3.5. Histogramas de la distribución de tamaño de partícula de la ferrita de níquel obtenida por:
a) electroquímica y b) sonoelectroquímica.

En la figura 3.6 podemos observar las imágenes de difracción de electrones, determinadas en la cámara del microscopio de transmisión. Nuevamente se observa el comportamiento ya mencionado en los difractogramas de la figura 3.3. Las nanopartículas en estado sólido policristalino generan patrones de difracción que consisten en una serie de anillos que permiten determinar el espaciado interplanar del material. Se puede observar una clara diferencia entre las imágenes a) y b) con respecto a las c) y d). En estas últimas se observan nítidamente los anillos, lo cual demuestra que las nanopartículas obtenidas por el método electroquímico y sonoelectroquímico presentan una estructura cristalina. Aunque el método químico y sonoquímico sean adecuados para la síntesis de nanopartículas, éstas son de tamaño muy pequeño, y con gran cantidad de compuestos amorfos, por este motivo los anillos de difracción no son nítidos. Los planos de cada uno de los anillos han sido medidos y los valores obtenidos en cada caso fueron comparados con los valores reportados en la literatura para la espinela de ferrita de níquel ^[10]. Se

comparó igualmente con los valores obtenidos a partir de los difractogramas de rayos X.

Los valores obtenidos se resumen en la tabla 3.4.

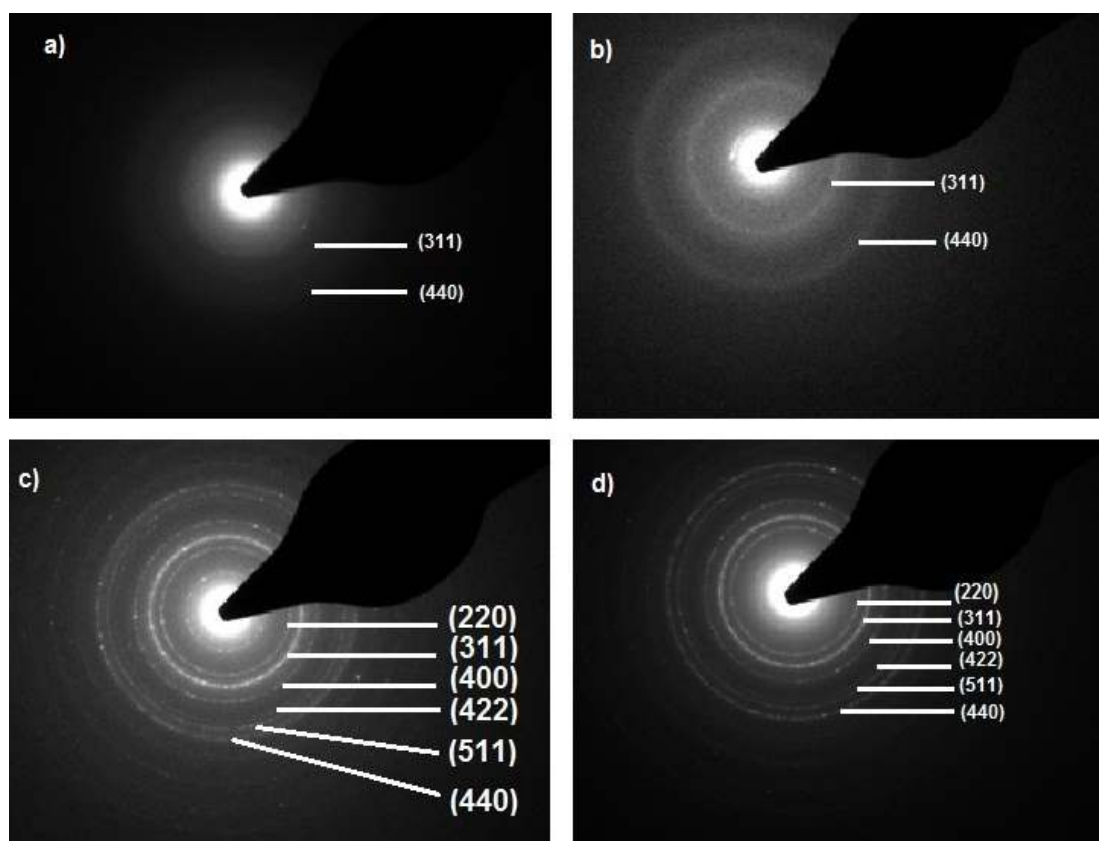


Figura 3.6. Imágenes de contraste de electrones para la ferrita de níquel obtenida por a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.

Tabla 3.4 Comparación de los valores reportados y experimentales para la distancia interplanar entre anillos d (Å) con respecto a los planos de difracción (h / k) . (ficha JCPDS-01-087-2335).

Planos (h / k)	Distancia Interplanar (Å)	electroquímica (Å)	sonoelectroquímica (Å)
2 2 0	2.948	3.014	2.965
3 1 1	2.513	2.571	2.498
4 0 0	2.085	2.104	2.104
4 2 2	1.702	1.756	1.756
5 1 1	1.605	1.599	1.581
4 4 0	1.476	1.495	1.456

Los valores obtenidos en el caso de la síntesis electroquímica y sonoelectroquímica corresponden con los patrones para la estructura cristalina de la espínela de la ferrita de níquel. Las líneas (220), (311), (400), (422), (511) y (440) se pueden identificar en el patrón de difracción de rayos X y las distancias calculadas, son muy similares a los valores reportados para este tipo de estructuras. Por el contrario en las muestras obtenidas por coprecipitación y sonoquímica aunque aparecen los anillos de difracción, los valores medidos para las distancias interplanares no parecen corresponderse con la ferrita de níquel.

3.4 Espectroscopía Infrarrojo (FTIR)

El espectro de infrarrojo (FTIR) de las diferentes muestras se puede observar en la figura 3.7. Las bandas que aparecen a 3483 y 1680 cm^{-1} corresponden a la adsorción de agua H-O-H y a vibraciones del tipo O-H de los radicales hidroxilos, estas señales aparecen en la misma posición y es característica para todas las muestras ^[2]. Los picos entre 2000 y 1000 son vibraciones de tipo N-H, N-OH, S-O, NO_3^- , etc., específicamente la banda que aparece alrededor de los 1090 cm^{-1} corresponde a las trazas del ion nitrato ^[2] que provienen del surfactante y sales metálicas utilizadas en la síntesis. El pico que aparece a 1380 cm^{-1} en las muestras a), b) y ligeramente en la muestra d), corresponde a enlaces O-H provenientes de FeOOH ^[11]. Esto corrobora los resultados obtenidos mediante las técnicas anteriormente descritas, que en las síntesis por coprecipitación, sonoquímica y sonoelectroquímica están presentes otros compuestos de hierro además de la ferrita de níquel. De la misma manera las bandas que aparecen entre los 818 y 891 cm^{-1} ,

principalmente en los espectros a), b) y d) corresponden a diferentes especies de Fe (III), tales como, α -FeOOH, δ -FeOOH, α -Fe₂O₃ o γ -Fe₂O₃ [3]. En general las bandas que aparecen entre los 500 y 1000 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones Metal-O características en este caso de la formación de las espinelas. Se observa claramente un pico alrededor de 592 cm⁻¹ en las muestras sintetizadas electroquímicamente y sonoelectroquímicamente. Esta banda es asignada a las vibraciones de los iones situados en las posiciones tetraédricas de la espinela (Fe \leftrightarrow O) [2, 12] y también corresponde a la vibración metal-metal, M_T-M_O, correspondiente al Fe(III)_{Tetraédrico}-Ni_{Octaédrico}.

En la muestra obtenida por coprecipitación se observa también este pico, pero mucho más ancho, lo que está de acuerdo con la menor cantidad relativa de espinela en el material y con el tamaño mucho más pequeño de la partícula.

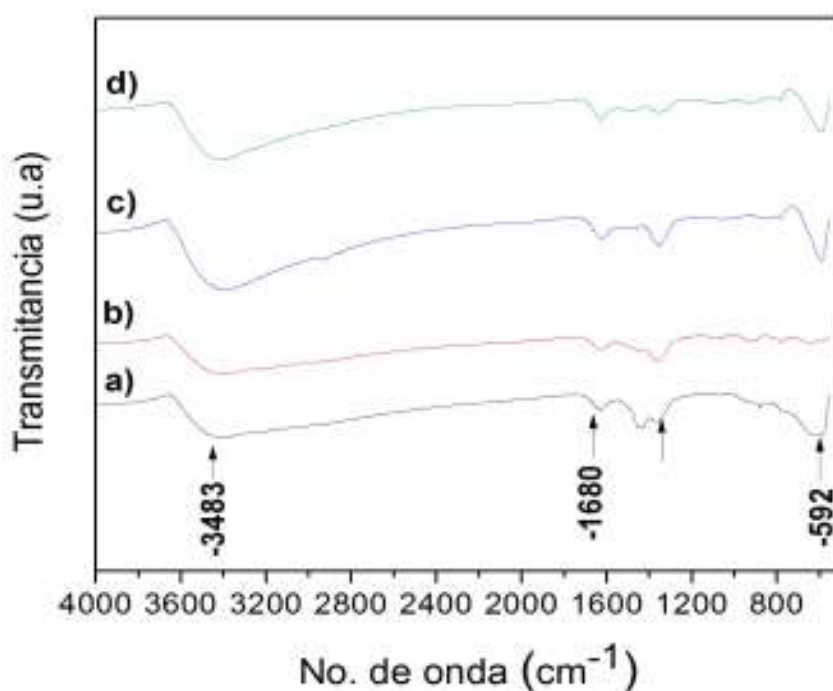


Figura 3.7 Espectro de FTIR para la ferrita de níquel sintetizada a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica

3.5 Espectrometría Mössbauer

Los espectros Mössbauer de las muestras obtenidas por coprecipitación y sonoquímica se muestran en la figura 3.8 a) y b) respectivamente. En estos casos se observa un doblete cuadrupolar que para el caso de la muestra obtenida por coprecipitación muestra los siguientes parámetros: desplazamiento isomérico (δ) 0.319(2) mm/s, y desdoblamiento cuadrupolar (QS) 0.646(2) mm/s. Mientras que los parámetros para la muestra obtenida por sonoquímica son: desplazamiento isomérico (δ) 0.330(1) mm/s, y desdoblamiento cuadrupolar (QS) 0.677(2) mm/s. En ambos casos estos parámetros son característicos de compuestos de Fe (III) de alto spin, la ferrita de níquel de tamaño inferior a 10 nm y por tanto superparamagnética y lo más probable un óxido u oxihidróxido paramagnético, como ya hemos verificado por otras técnicas.

En la Figura 3.8 c) se muestra el espectro Mössbauer a temperatura ambiente del NiFe_2O_4 electrosintetizado. Este espectro resulta de la superposición de dos subespectros magnéticos cuyos parámetros hiperfinos son: desplazamiento isomérico (δ) 0.315(2) mm/s, desdoblamiento cuadrupolar (QS) 0.02 (1) mm/s y campo magnético hiperfino (H) 48.4 (2) T y $\delta=0.552$ (7) mm/s, QS=0.00(1) mm/s y H= 44.7 T , correspondientes al Fe^{3+} localizado en la posición tetraédrica y octaédrica de la espinela, respectivamente. Dichos valores de campo son inferiores a los valores esperados de 50,6 T y 54,8 T ^[11, 13, 14] para ambas posiciones, y por tanto, indicativos del tamaño nanométrico del material. El porcentaje de Fe en posición tetraédrica es 57%, ligeramente superior a la que correspondería a la estructura de espinela totalmente inversa. Superpuesto a ambos sextetes se observa además, la presencia de un doblete cuyos parámetros,

$\delta=0.342(3)\text{mm/s}$ y $QS=0.825(5)\text{mm/s}$, y que permiten asociarlo a la presencia de un 22% de partículas de NiFe_2O_4 de tamaño próximo a los 10 nm, lo que explicaría su carácter superparamagnético. Por espectroscopía Mössbauer no es posible descartar la presencia de algún otro óxido de Fe^{3+} paramagnético o superparamagnético, ya que su espectro se correspondería con el mismo doblete ^[15, 16].

El espectro Mössbauer de la muestra obtenida por sonoelectroquímica (figura 3.8 d) es similar: dos subespectros magnéticos cuyos parámetros hiperfinos son: isomeric shift (δ) $0.312(2)\text{ mm/s}$, quadrupole splitting (QS) $0.02(1)\text{ mm/s}$ y campo magnético hiperfino (H) $48.3(4)\text{ T}$ y $\delta=0.51(1)\text{ mm/s}$, $QS=0.04(2)\text{mm/s}$ y $H=44.8(1)\text{ T}$, correspondientes al Fe^{3+} localizado en la posición tetraédrica y octaédrica de la espinela, respectivamente. Se observa además, la presencia del doblete cuyos parámetros, $\delta=0.322(6)\text{mm/s}$ y $QS=0.81(1)\text{mm/s}$, con un 23% de partículas de NiFe_2O_4 de tamaño inferior a 10 nm.

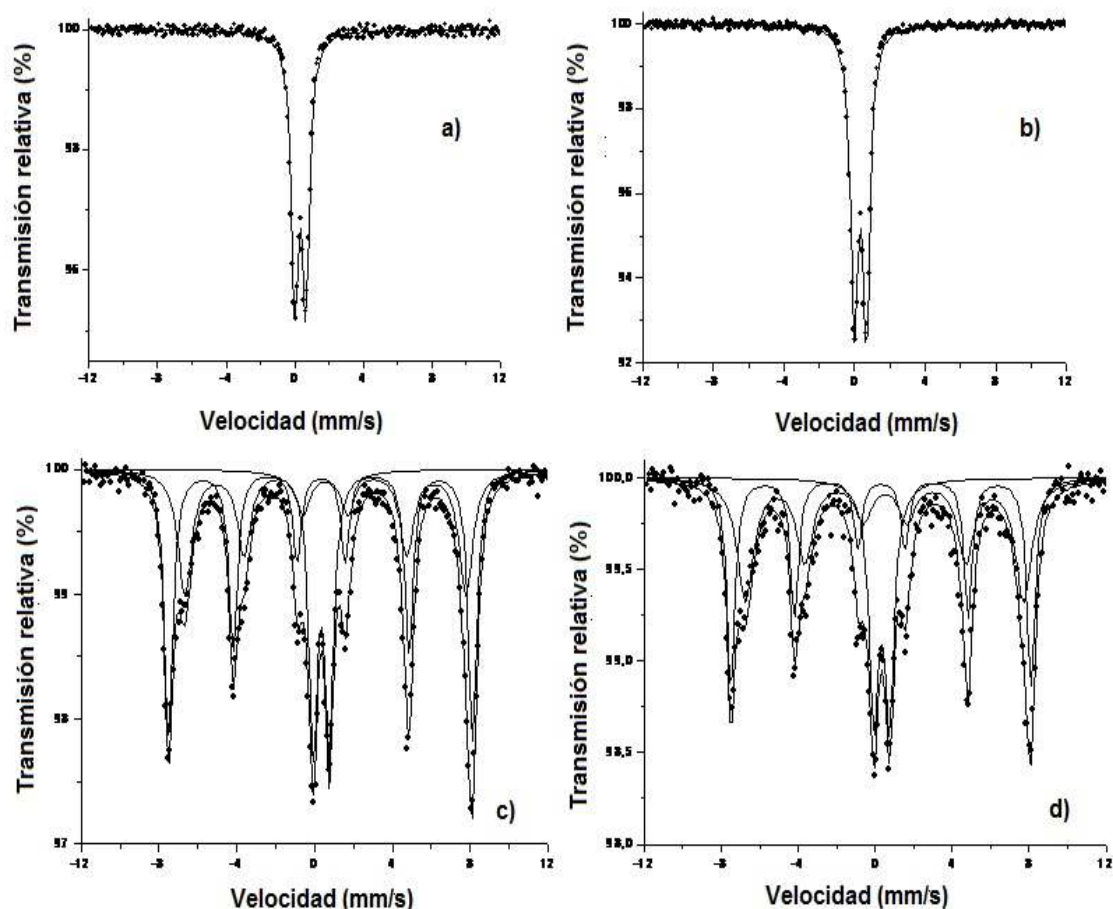
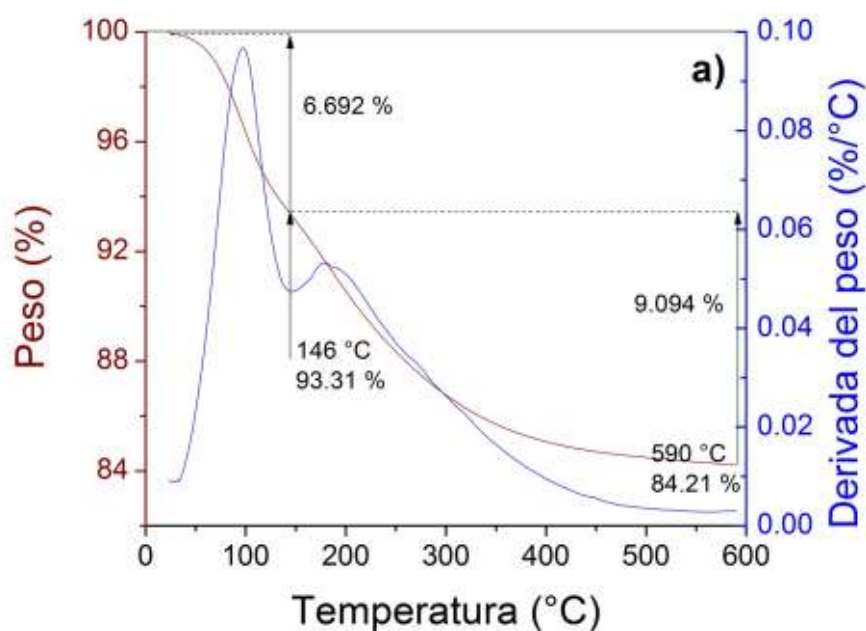


Figura 3.8 Espectro Mössbauer para la ferrita de níquel sintetizada por el método de: a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica.

3.6 Análisis termogravimétrico (TGA)

Las curvas termogravimétricas (TGA) y de análisis termogravimétrico diferencial (DTA) se realizaron para comprobar las temperaturas y porcentajes de descomposición del material con la temperatura. En las curvas TGA y DTA de las figuras 3.9 se distinguen dos claros procesos exotérmicos a temperaturas de 100 °C y 200 °C para las muestras obtenidas por coprecipitación y sonoquímica. Ambas muestras presentan una pérdida de peso similar de

6.7 y 11.34 % respectivamente. Esta primera pérdida de peso a 100 °C está asociada con la pérdida de agua de hidratación adsorbida sobre la muestra. A partir de este valor el termograma presenta una disminución gradual del peso, lo que está asociado con la descomposición de los oxihidróxidos de hierro ^[6]. Ningún otro pico se observa a valores superiores de temperatura. Los valores de temperatura encontrados para la descomposición de los oxihidróxidos están en concordancia con el hecho de que los espectros de XPS muestren tanta similitud, debido a la descomposición de éstos a temperaturas entorno a 170 °C, temperatura a la que se trabaja previa al análisis de las muestras por XPS (ver sección 3.7).



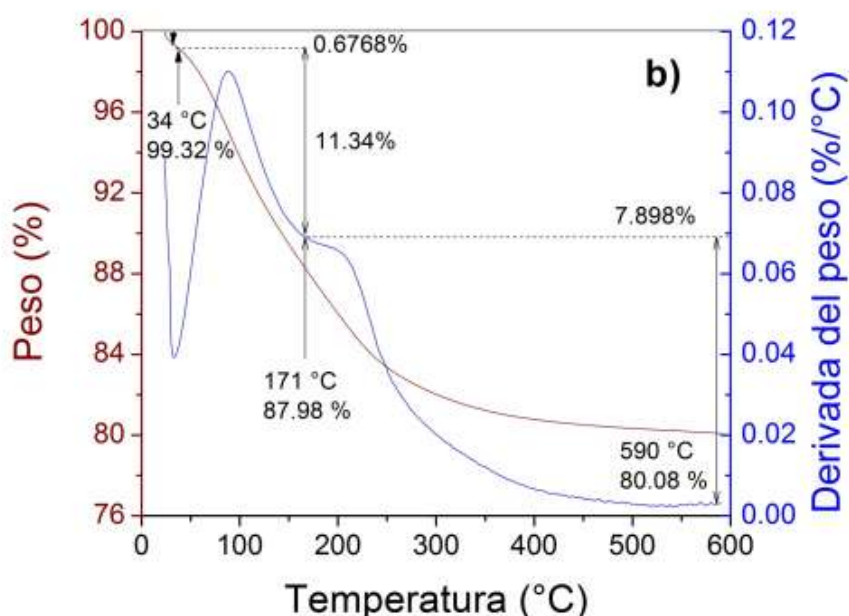


Figura 3.9 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial de a) ferrita de níquel sintetizada vía a) co-precipitación; b) ferrita de níquel sintetizada vía sonocquímica.

Las figuras 3.9 c) y d) corresponden a los TGA y DTA de las muestras obtenidas por electroquímica y sonoelectroquímica. Los dos termográmicos se asemejan entre sí, y a la vez son diferentes de los que se obtienen para los otros dos métodos de síntesis. Aparecen los dos primeros picos exotérmicos para la desorción de agua a aproximadamente 100 °C. En el caso de la muestra sintetizada electroquímicamente se observa un pico a 250 °C que asociamos a la descomposición del compuesto orgánico que actúa como surfactante. Y un pico a 400 °C que puede deberse a la transición de fase γ - Fe_2O_3 a α - Fe_2O_3 [2, 6]. Por lo que pensamos que estas muestras contienen estas impurezas, hecho que concuerda con un valor más elevado de la relación Fe/Ni y a la no distinción ni en Rayos-X ni en Mossbauer de la existencia de pequeñas cantidades de este compuesto en la síntesis. Por el contrario en el caso de la muestra obtenida por sonoelectroquímica,

aparece un pico muy ancho alrededor de 200 °C, el cual es asignado a la descomposición simultáneamente de los oxihidróxidos y el surfactante ^[3, 6]. Del mismo modo aparece un pico a 400 °C que se puede atribuir al mismo proceso mencionado anteriormente.

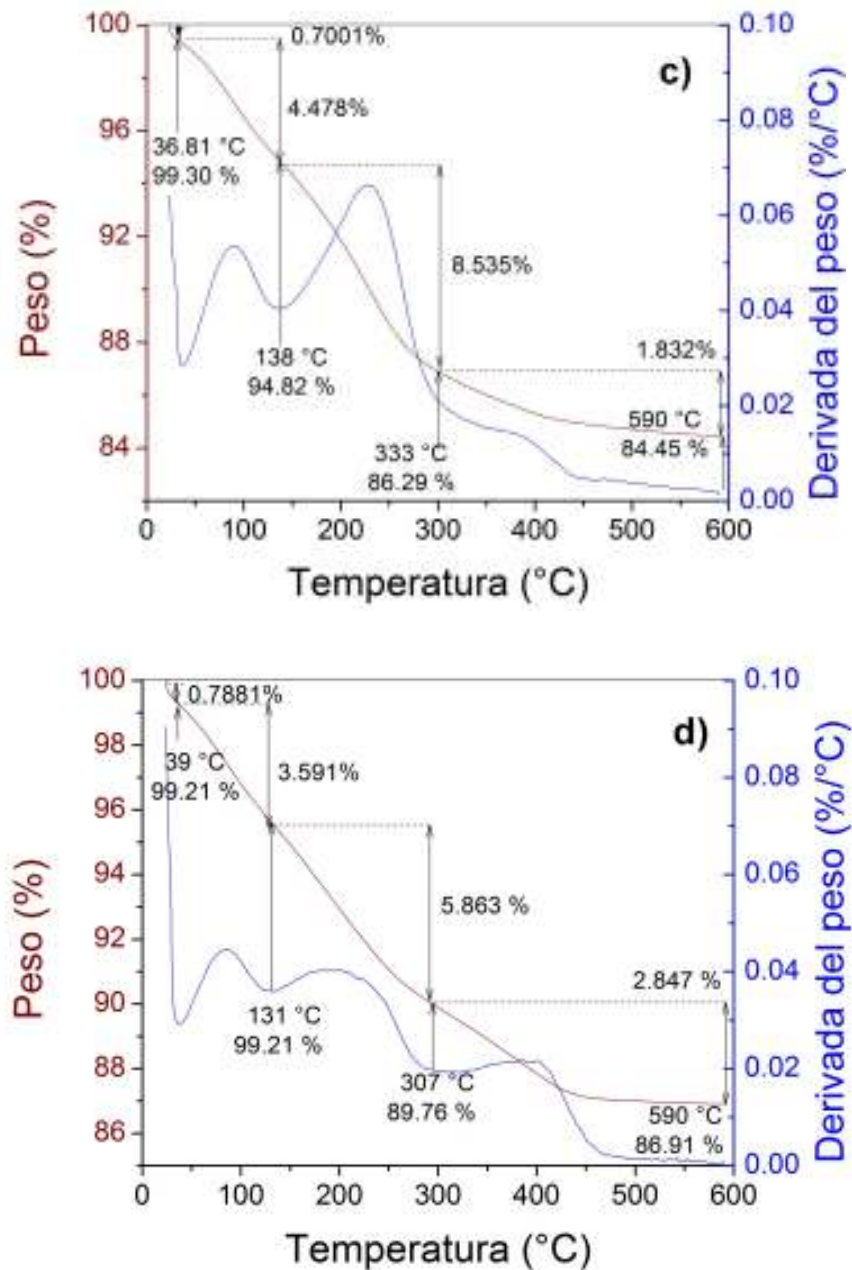


Figura 3.9 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial de c) ferrita de níquel sintetizada vía electroquímica; d) ferrita de níquel sintetizada vía sono-electroquímica.

3.7 Análisis XPS

Complementariamente se realizó un análisis elemental mediante XPS. Los espectros se tomaron usando un ánodo de Mg K α y una energía de paso de 20 eV, con una resolución de 0.9 eV.

En la figuras 3.10 a y b se presentan los espectros de XPS para las regiones del Ni(2p) y Fe(2p) medidos para muestras representativas de nanopartículas de ferritas de Fe y Ni sintetizadas mediante coprecipitación, sonoquímica, electroquímica y sonoelectroquímica, respectivamente. A partir del análisis de estos espectros, se ha observado la presencia de dos picos principales situados a 710.3 eV y 855.5 eV, correspondientes a los niveles de energía Fe 2p_{3/2} y Ni 2p_{3/2}. La posición de estos picos se corresponde con los valores de energía de enlace referenciados en la bibliografía para los cationes Ni²⁺ [4] y Fe³⁺ [5] para un óxido de hierro-níquel tipo NiFe₂O₄. De igual forma, en ambas regiones se observa la presencia de diferentes picos correspondientes a los orbitales Fe 2p_{1/2} (\approx 724.4 eV) y Ni 2p_{1/2} (\approx 873 eV) y los satélites típicos de este compuesto. Adicionalmente, en la región del Fe (2p) se observa la presencia de un hombro en el pico Fe 2p_{3/2} situado en torno a 711.5 e.V, que se corresponde aproximadamente con la energía del nivel 2p_{3/2} del catión Fe³⁺ para el Fe(OH)O [5], y cuya intensidad varía en función del método de síntesis utilizado, siendo ésta menor en el caso de la muestra sintetizada mediante métodos electroquímicos.

En la bibliografía compuestos del tipo NiO [5, 17] la forma del pico Ni 2p_{3/2} presenta un desdoblamiento que es el resultado de la suma de tres contribuciones correspondientes a efectos de volumen, superficie e interacciones entre vecinos. Sin embargo en nuestros

espectros la forma del pico correspondiente es bastante redondeada. Pueden existir dos razones para explicar este fenómeno.

- a) En nuestro caso tenemos un compuesto que no es NiO.
- b) Estas muestras son nanopartículas en vez de material en volumen. Por lo que el efecto de superficie es mucho mayor que el efecto de volumen, con lo que las contribuciones de superficie y de volumen se igualan, provocando el suavizado del valle entre los dos picos.

Por otra parte, es necesario señalar la aparición de dos pequeños picos situados aproximadamente a 707 eV y 853 eV, que corresponden con los niveles de energía $2p_{3/2}$ del Fe y Ni metálico respectivamente [2, 6]. En el caso del hierro metálico, se ha comprobado mediante el análisis del corrimiento de carga para estos espectros que este pico es debido a una mínima contribución a la señal de XPS procedente del portamuestra de acero empleado en estos experimentos. Sin embargo, en el caso del níquel metálico, el resultado de este análisis indicaba que dicha señal provenía de la propia muestra. Dado que para realizar estas medidas, las muestras fueron previamente calentadas a 170 °C en condiciones de alto vacío durante tres horas (ver método experimental del capítulo 2), podría producirse, por las pequeñas trazas de hidrógeno en la cámara ($P_{H_2} = 1 \times 10^{-10}$ mbar), la reducción de iones Ni^{2+} a níquel metálico [17-19]. Aunque se necesita una investigación más detallada de este proceso para conocer las causas exactas. La semejanza en los espectros XPS pudiera hacer pensar que estamos analizando el mismo compuesto, aunque ha quedado claro de la caracterización por difracción de rayos-X, TEM e IR que las

muestras obtenidas por el método de coprecipitación y sonoquímica presentan después de la síntesis gran cantidad de oxihidróxidos. El semejante comportamiento en XPS puede ser debido al tratamiento térmico que se le da a las muestras antes de su análisis, que provoca la descomposición de los oxihidróxidos, como se confirma por ATG (sección 3.6).

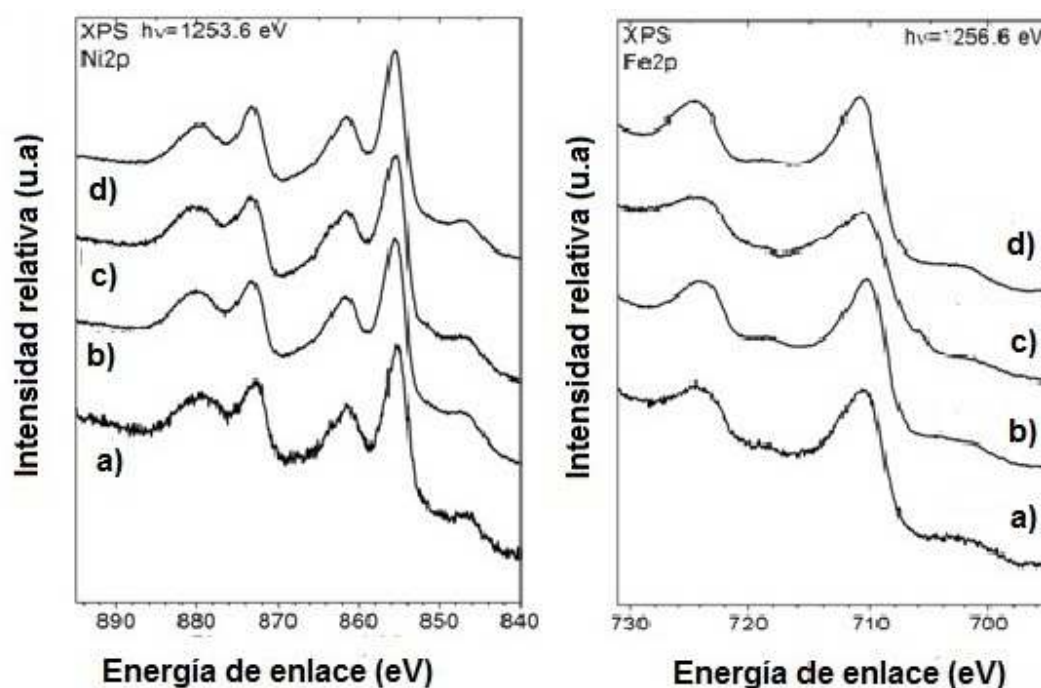


Figura 3.10 Espectros de XPS para las regiones: a) Ni_(2p) y b) Fe_(2p) medidos para nanopartículas de ferritas de Fe y Ni sintetizadas mediante a) coprecipitación, b) electroquímica, c) sonoelectroquímica y d) sonoquímica.

3.8 Propiedades magnéticas

La caracterización magnética de las nanopartículas se llevó a cabo mediante curvas de imanación frente a campo magnético. La figura 3.11 muestra la curva de magnetización para una muestra obtenida electroquímicamente.

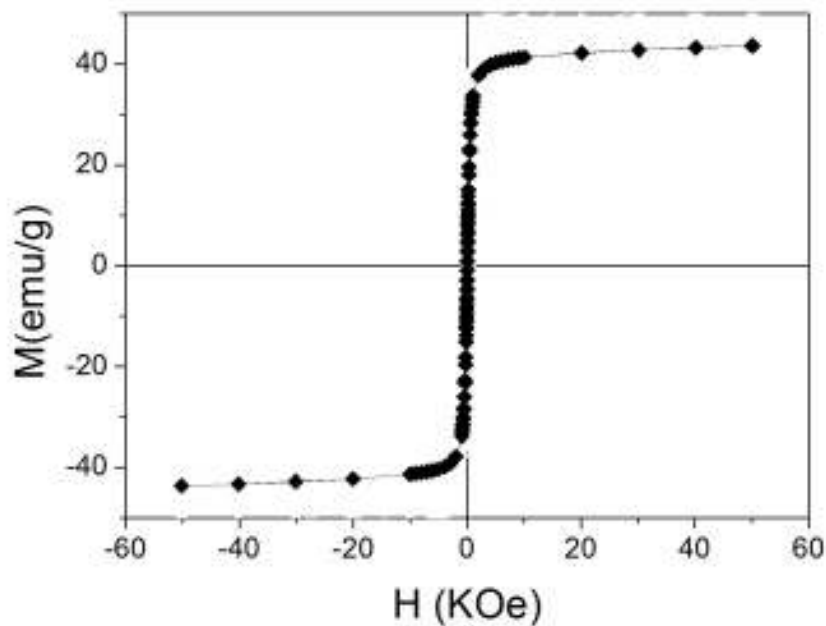


Figura 3.11 Variación de la magnetización (M) con el campo aplicado (H) para la ferrita de níquel sintetizada por electroquímica a 300 K.

Las partículas muestran un comportamiento ferromagnético, con valores de imanación de 42.5 emu/g y de coercitividad de 0.047 KOe a 300K . Este valor es algo menor que el valor de imanación para ferritas de níquel en bulk que es de 55 emu/g y 0.54 KOe ^[7, 20]. La figura en el inset presenta una ampliación de la figura anterior para poder evaluar el valor de la coercitividad a esta misma temperatura. En la figura 3. 12 es posible observar el efecto de magnetización y coercitividad con el cambio de temperatura. Este cambio está asociado con la anisotropía cristalina del material, y los valores obtenidos a 5K son de 56 emu/g y de 0.21 KOe que corresponde al valor para una ferrita de níquel tamaño nanométrica. Si observamos detenidamente las curvas de magnetización de la figura 3.12, se observa que no se alcanza una completa saturación, incluso a campos tan altos como 50 KOe . Este comportamiento está relacionado con la existencia de desórdenes de spin,

donde las interacciones de intercambio tienen lugar. Sin embargo, es muy complicado conocer el origen de este desorden magnético y en general se le relaciona con pérdidas en la cristalinidad o la presencia de defectos en la estructura del material. Parece ser lo más probable por los estudios realizados anteriormente y donde se mostraba que este material no es una espinela completamente inversa (sección 3.5), que sea la segunda razón, la presencia de defectos estructurales (sección 3.1), la que produzca dicho efecto.

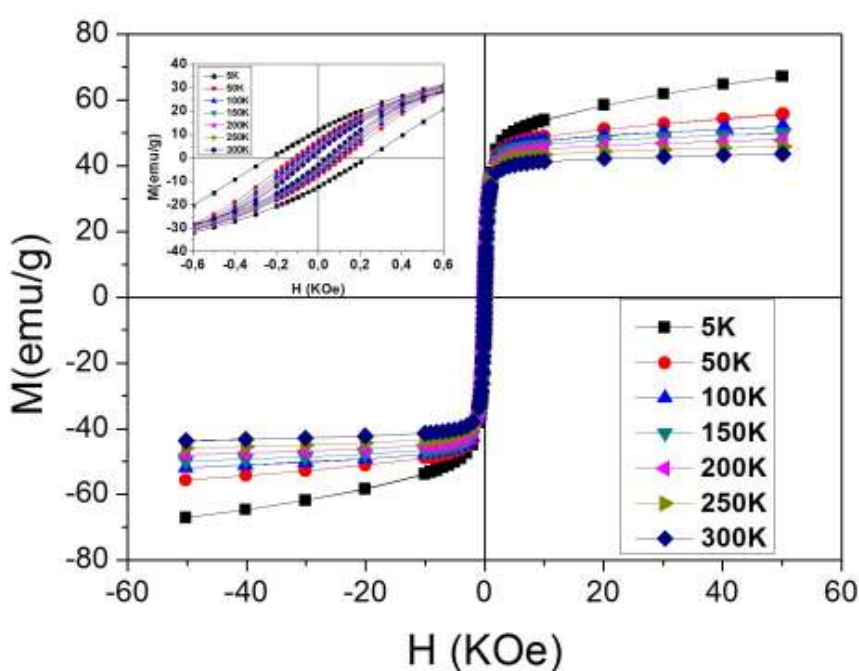


Figura 3.12 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas de la NiFe_2O_4 obtenida vía electroquímica.

Para las muestras obtenidas por sonoelectroquímica, las curvas de magnetización que se muestran en la figura 3.13 son muy parecidas, con valores de magnetización de saturación de 49 emu/ g y de coercitividad de 0.03 KOe a 300 K. Los valores obtenidos para la temperatura de 5 K son 60.5 emu/g y 0.029 KOe, ambas cantidades son mayores a los obtenidos para la muestra sintetizada electroquímicamente. Este comportamiento es

normal en nanopartículas de menor tamaño, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por XRD y TEM.

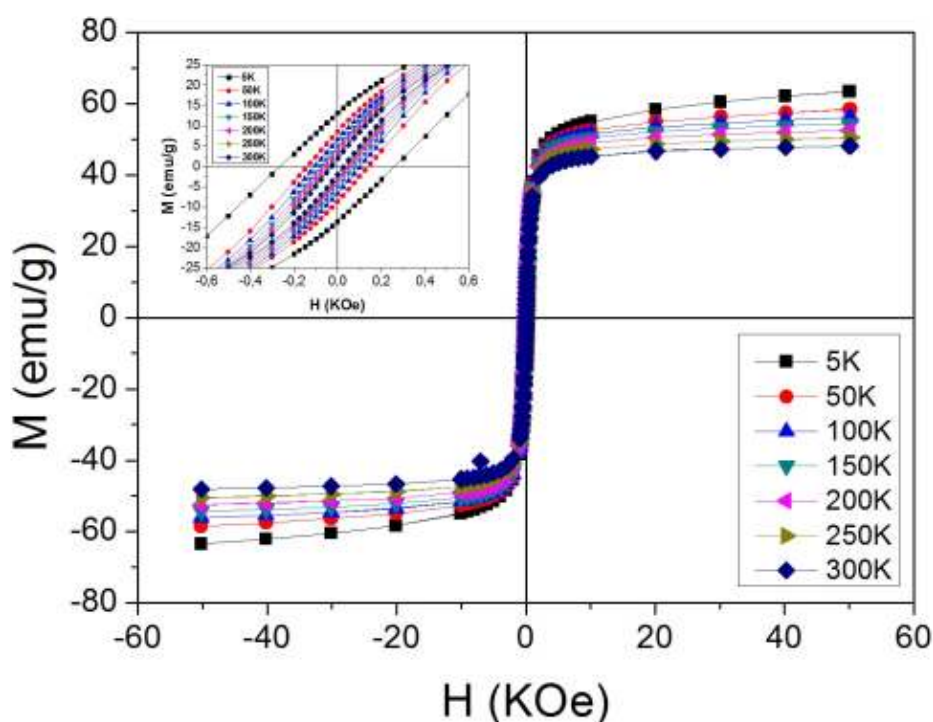


Figura 3.13 Curvas de magnetización de la muestra NiFe_2O_4 obtenida por sono-electroquímica a diferentes temperaturas. La gráfica inserta muestra la ampliación de las mismas

En el caso de las muestras obtenidas por coprecipitación y sonoquímica, las curvas de magnetización mostradas en las figuras 3.14 y 3.15 respectivamente, presentan un comportamiento superparamagnético a temperaturas mayores de 5K. Esto se comprueba por la reversibilidad de los ciclos a distintas temperaturas y la forma sigmoidal de la misma. Cuando la temperatura disminuye a 5K las nanopartículas de tamaño nanométrico por debajo de los 10 nm obtenidas por estas técnicas, dan lugar a un comportamiento ferromagnético del material. Esto es debido a su pequeño tamaño, lo que produce una anisotropía de desorden superficial.

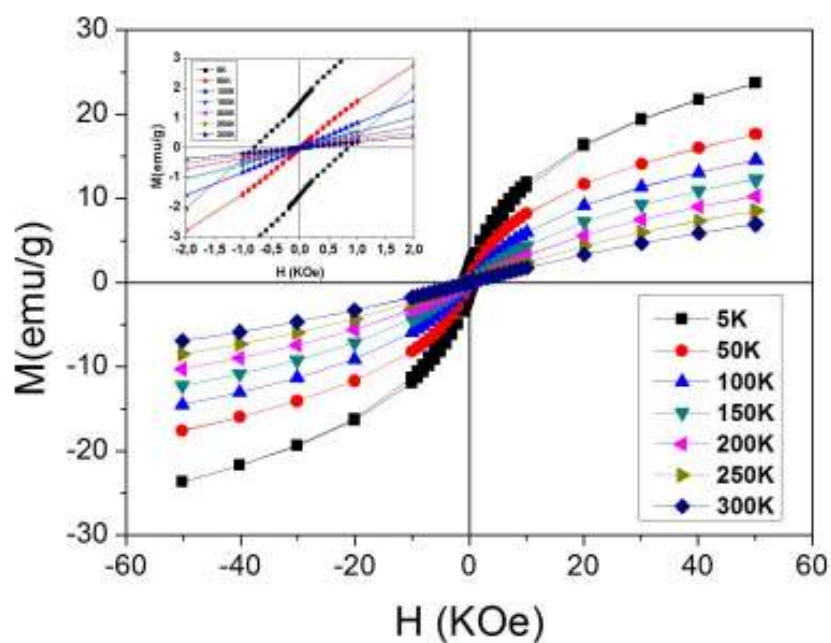


Figura 3.14 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas de la NiFe_2O_4 obtenida por coprecipitación.

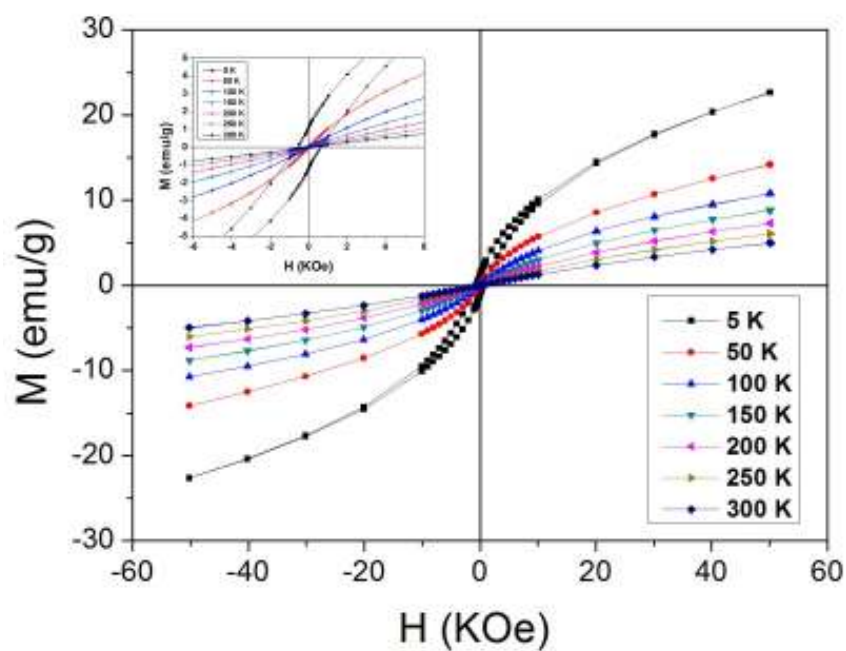


Figura 3.15 Curvas de magnetización a diferentes temperaturas. de la muestra NiFe_2O_4 obtenida por sonoquímica.

3.9 Propiedades coloidales

Las propiedades coloidales de las muestras fueron evaluadas con el fin de conocer la estabilidad de las mismas en disolución. Para ello se determinó el potencial (Z) o potencial electrocinético medido a través de la movilidad electroforética ^[21]. En la figura 3.16 se observa el efecto del pH, sobre el potencial Z, en cada una de las cuatro muestras de ferritas de níquel obtenidas a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica y d) sonoelectroquímica. Las cuatro muestras presentan punto isoeléctrico, es decir, un valor de pH al que $Z = 0$. Estos valores de pH indican la estabilidad de la nanopartícula, en medio ácido, básico o neutro según sea el caso y se resumen en la tabla 3.5.

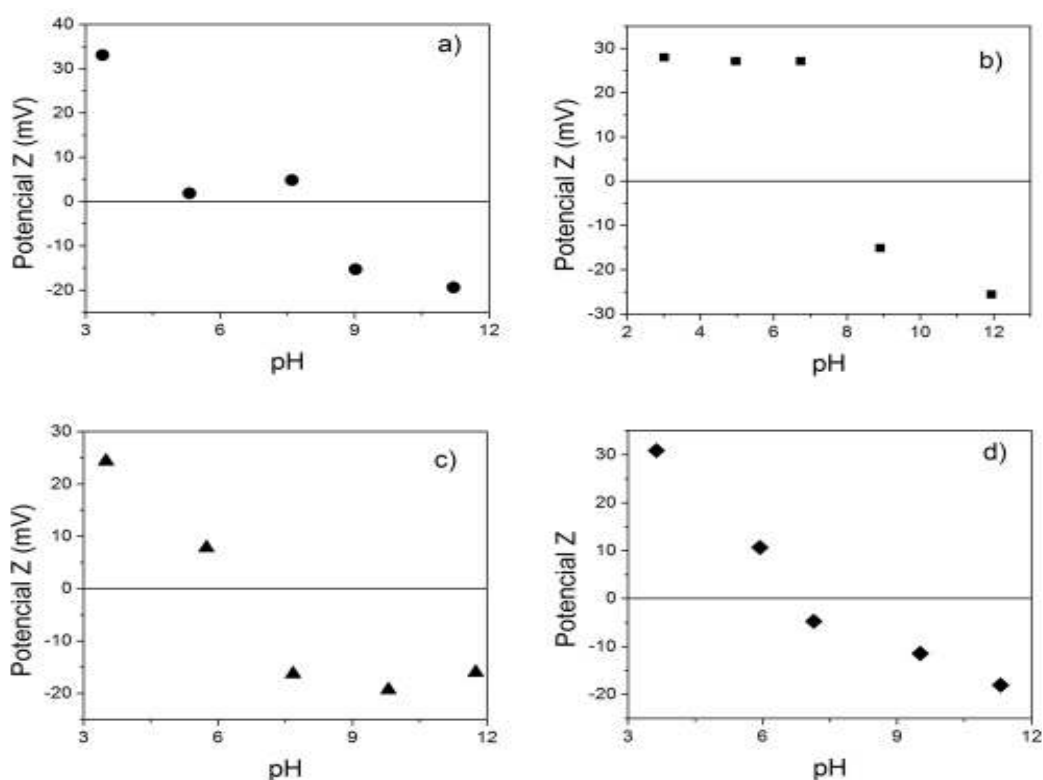


Figura 3.16 Medida del potencial Z a la ferrita de níquel en suspensión en KNO_3 10^{-2} M, sintetizada por a) coprecipitación, b) sonoquímica, c) electroquímica, d) sonoelectroquímica.

De acuerdo a los resultados de la tabla 3.5, todas las muestras presentan punto isoeléctrico en un intervalo de pH de entre 6.5 y 8.5. Las muestras obtenidas por coprecipitación y sonoquímica presentan este punto más cercano a 9, lo que está en concordancia con su alto contenido en oxihidróxidos. Por el contrario, las muestras obtenidas electroquímicamente y sonoelectroquímicamente tienen puntos isoeléctricos a valores más bajos en torno a 7, lo que está de acuerdo con la presencia de óxidos.

Tabla 3.5. Punto isoeléctrico para las muestras de ferrita de níquel obtenidas por 4 metodologías diferentes.

Ruta de síntesis	pH
a) Coprecipitación	7.8
b) Sonoquímica	8.5
c) Electroquímica	6.7
d) Sono-electroquímica	6.8

En la tabla 3.6 se muestran los valores correspondientes al radio hidrodinámico de las muestras de ferrita de níquel sintetizada por electroquímica y sonoelectroquímica, debido a que los resultados obtenidos para la coprecipitación y sonoquímica están fuera del intervalo de medida equipo, lo que indica la existencia de aglomerados y no la formación mayoritaria de nanopartículas. El valor que se muestra es el promedio de tres medidas.

Tabla 3.6. Medida del radio hidrodinámico para las muestras NiFe_2O_4 obtenidas por 4 metodologías diferentes.

Ruta de síntesis	D/ (nm)	r/ (nm)
a) Electroquímica	172	86
b) Sonoelectroquímica	193	96

De los datos obtenidos, se puede concluir que las muestras a) y b) presentan radios hidrodinámicos en el orden de 90 nm. Si consideramos el tamaño de estas nanopartículas analizadas tanto por rayos-X, como por TEM, el tamaño del recubrimiento que rodea a las nanopartículas es del orden de 50 y 60 nm respectivamente. El radio hidrodinámico es una medida de la solvatación de la nanopartícula conjuntamente con el surfactante. Para aplicaciones biomédicas las nanopartículas deben tener un radio hidrodinámico no mayor de 100 nm, ya que mayores tamaños podrían producir daños en los vasos sanguíneos. Lo cual indica que estas partículas podrían a priori utilizarse en aplicaciones biomédicas.

3.10 Conclusiones parciales

- En las condiciones de trabajo, con similitud en los parámetros de síntesis tales como temperatura, pH, agitación y tiempo en las distintas metodologías empleadas, podemos concluir que en los métodos de coprecipitación y sonoquímica, se producen mayoritariamente oxihidróxidos, frente a los métodos electroquímico y sonoelectroquímico donde se produce mayoritariamente la formación de óxidos de Fe y Ni.

- Es obvio que la optimización en los parámetros de síntesis de las metodologías empleadas permitiría eliminar los hidróxidos y oxihidróxidos obtenidos, aumentando el número de lavados o filtrando el fluido obtenido por filtros de diferente tamaño.
- Las nanopartículas con las mejores propiedades morfológicas, estructurales, térmicas, magnéticas y coloidales fueron las obtenidas por la vía electroquímica.
- La sonoelectroquímica proporciona partículas de características muy similares a las obtenidas electroquímicamente, de menor tamaño y con valor de magnetización ligeramente menor, por lo que puede resultar una metodología alternativa para la obtención de ferrita de níquel.

3.11 Referencias del capítulo

- [1] B.D. Cullity, S.R. Stock, Elements of X-ray Diffraction, third ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 2001.
- [2] S. Maensiri, C. Masingboon, B. Boonchomb, S. Seraphin, Scripta Materialia, **56** (2007) 797–800.
- [3] L. Cabrera, Tesis doctoral, Síntesis electroquímica y caracterización de nanopartículas de magnetita: Generación de materiales híbridos, 2008.
- [4] K.K.Lian, D.W. Kirk, S.J. Thorpe, J. Electrochem. Soc. **142** (1995) 3704 -3709.
- [5] J. Zhang, J. Shi, M. Gong, J. Solid State Chem., **182** (2009) 2135 – 2140.
- [6] C.G. Ramankutty, S. Sugunan, Appl. Catalys. A: Gral **218** (2001) 39–51
- [7] N.S. McIntyre, D.G. Zetaruk., Anal. Chem., **49** (1977) 1521 -1526.
- [8] A. Aqil, H. Serwas, J.L. Delplancke, R. Jérôme, C. Jérôme, L. Canet. Ultrasonics Sonochemistry, **15** (2008) 1055–1061.
- [9] A. Durant, H. Francois, J. Rrisse, A. Kirsch-DeMesmaeker, Electrochimica Acta, **41.2** (1996) 277-284.
- [10] K. Maaz, S.Karim, A.Mumtaz, S.K.Hasanain, J.Liu, J.L.Duan. J. Magn. Magn. Mat. **321** (2009) 1838–1842.
- [11] E. Manova, T. Tsoncheva, D. Paneva, J.L. Rehspringer, K. Tenchev, I. Mitov, L. Petrov, App. Catal. A: Gral. **317** (2007) 34–42
- [12] J. Smit, H.P.J. Wijn, Ferrites—Physical Properties of Ferromagnetic Oxides in Relation to their Technical Applications, Wiley, New York, 1959. A. Kale 2004).

- [13] Mössbauer Spectroscopy. N.N.Greenwod and T.C. Gibb. Editorial Chapman and Hall Ltd. 1971.
- [14] R.N. Panda, N.S. Gajbhiye, G. Balaji, J. Alloys Compd. **326** (2001) 50–53.
- [15] S. Morup, J. Magn. Magn. Mater. **37** (1983) 39–50.
- [16] S. Morup, H. Topsoe, J. Magn. Magn. Mater. **31–34** (1983) 953–954.
- [17] A. S. Albuquerque, M. V.C. Tolentino, J. D. Ardisson, F.C.C. Moura, R. Mendonc, W.A.A. Macedo, Ceramics International **38** (2012) 2225–2231
- [18] K. Miyoshi, D. H. Buckley, NASA Technical Paper, **21 63** (1983) 1-20.
- [19] M. A. Cangiano, M. W. Ojeda, A. C. Carreras, J. A. González, M. C. Ruiz, Mat. Characterization, **61** (2010) 1135- 1146.
- [20] M. George, A. M. John, S. S. Nair, P.A. Joy, M.R. Anantharaman, J. Magnet. Magnet. Mater. **302** (2006) 190–195.
- [21] B. M. Cabañas, S. Leclercq, P. Barboux, M. Fédoroff, G. Lefèvre, J. Colloid Interface Science **360** (2011) 695–700.

CAPITULO 4.

BIOSENSOR

Capítulo 4

Sensores con base ferrita de níquel

4.1 Generalidades:

Los sensores son dispositivos que transforman la información física o química en una señal útil que pueda ser procesada y, por tanto, que facilite información de interés de una manera rápida y sin necesidad de análisis muy complejos ^[1, 2, 3].

Como se mencionó en el capítulo 1, las nanoferritas pueden aplicarse como sensores de diferentes tipos ^[2-5]. Una modalidad utiliza propiedades como la magneto resistencia y magneto impedancia, en este caso los sensores pueden detectar las fuentes magnéticas que originan grandes cambios en la impedancia o la resistencia. Otra posibilidad consiste en el desarrollo de sensores magnéticos que puedan conectarse con dispositivos magnéticos de almacenamiento de información ^[3, 6, 7].

Por otro lado, se ha encontrado ^[2, 8, 9] que las nanoferritas de Co y Mn son de utilidad como sensores de gases contaminantes, originados por combustión, puesto que tienen gran área superficial, lo que proporciona una mayor superficie activa, además de que son muy porosas y de baja densidad, debido al pequeño tamaño de cristal. Esto favorece los procesos de adsorción y desorción en su superficie, pudiendo ser aplicadas como sensores de gas y de humedad ^[9].

4.2 Sensores bioquímicos

Un biosensor es un dispositivo analítico integrado que combina una parte biológicamente sensible con un transductor, de forma que la reacción de reconocimiento molecular que tiene lugar en la primera parte, se traduce en una señal eléctrica u óptica en la segunda, señal que se procesa electrónicamente y que es proporcional a la concentración de la sustancia que se quiere determinar ^[2, 3, 10]. Los dos constituyentes forman una unidad funcional (Figura 4.1), cuya selectividad viene dada por la parte biológicamente activa y la sensibilidad se consigue mediante un mecanismo de transducción adecuado. El material biológico que se emplea debe reconocer específicamente una propiedad de una molécula determinada. Los biosensores permiten realizar un proceso de medida química directa y así obtener una señal continua y reversible, además de una integración espacial, lo que favorece la miniaturización ^[1, 10].

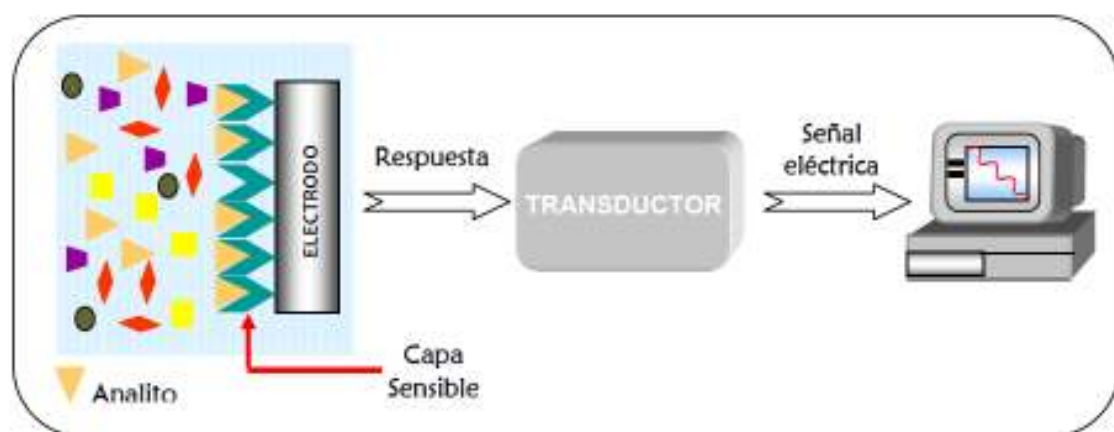


Figura 4.1.- Esquema del funcionamiento de un biosensor ^[1]

Los biosensores pueden clasificarse en: electroquímicos, (amperométricos, potenciométricos, conductimétricos, impedimétricos), ópticos (absorbancia, reflectancia, fluorescencia, bioluminiscencia, resonancia de plasmón superficial), calorimétricos y de masa (piezoeléctricos), entre otros ^[1-3].

Otro tipo de sensores son los enzimáticos. Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones biológicas. En las reacciones enzimáticas, la molécula transformada se denomina sustrato y normalmente, implica el uso de otro reactivo llamado cofactor, para generar los correspondientes productos. Las enzimas pueden clasificarse fundamentalmente en seis grupos, de los cuales, las más importantes para fines analíticos son las oxidoreductasas, las hidrolasas y algunas liasas ^[11]. El carácter catalítico hace que en su reacción con el sustrato se regeneren a su estado inicial y no sea necesario ningún tipo de tratamiento para restablecer el biosensor ^[1]. Los dispositivos electroquímicos son los más utilizados como transductores en el desarrollo de biosensores enzimáticos, y no enzimáticos debido a que poseen las siguientes ventajas ^[12, 13].

- Las medidas electroquímicas pueden ser realizadas en volúmenes pequeños, por lo que hace que estos dispositivos sean especialmente apropiados para la detección “in vivo”.
- La señal obtenida, es eléctrica, y por tanto es factible la transducción directa de la velocidad de reacción en la señal de lectura.
- Los límites de detección que se obtienen, normalmente entre 10^{-9} y 10^{-6} mol L⁻¹, son suficientes y adecuados para la detección de numerosos analitos de interés.

- La relativa simplicidad y el bajo coste de la instrumentación electroquímica permiten una fácil disponibilidad de estos dispositivos.

Un aspecto importante para el buen funcionamiento de los biosensores es la selección adecuada de los materiales que componen el mismo. Bajo este contexto, las nanopartículas magnéticas han cobrado importancia recientemente para la selección de genes de cáncer, azúcar, colesterol, ácido úrico o ácido láctico ^[8, 14 - 16]. De tal manera que las nanopartículas que se emplean como material de electrodo en biosensores mejoran la selectividad y permiten directa o indirectamente detectar niveles bajos de glucosa, colesterol, lactasas, entre otras ^[8, 17]. Trabajos recientes ^[2, 8, 14, 17 - 19], han demostrado que las nanopartículas de magnetita tienen una actividad intrínseca de enzimas miméticas muy similares a las peroxidasas naturales y son un catalizador muy efectivo para la reducción de H_2O_2 ^[20]. El estudio de la oxidación – reducción del peróxido de hidrógeno es importante, puesto que es el principal producto de numerosas reacciones enzimáticas, que involucran oxidasas, como la glucosa oxidasa, colesterol oxidasa, y la L-aminoácido oxidasa ^[20-22].

Investigaciones recientes reportan el uso de las nanopartículas de óxidos de hierro como una peroxidasa artificial, siendo mucho más estables y con casi la misma actividad catalítica que las enzimas naturales a intervalos más amplios de pH y temperatura ^[23]. Además las nanopartículas son más fáciles de sintetizar, a bajo costo y sin el problema de la desnaturalización que presentan las enzimas naturales. Por otro lado presentan una gran área superficial, rápido transporte másico y buena biocompatibilidad ^[24, 25, 26, 27].

El níquel es otro material que se ha estudiado recientemente^[24, 28] para la determinación de glucosa en medio básico. Estos resultados sugieren que la respuesta se debe a la oxidación del $\text{Ni}^{2+}/3+$ que se produce sobre la superficie del metal y que cataliza posteriormente la reacción de oxidación del analito de interés. Sin embargo, los mejores resultados se obtienen al mezclar nanopartículas de Ni con un material conductor y poroso como el grafito, formando electrodos de pasta de carbono. Este tipo de compositos mejora hasta en un orden de magnitud la sensibilidad a la glucosa con respecto al electrodo formado por solo Ni^[28]. Safavi et al.^[29] reportan el uso de hidróxidos de níquel mezclados con grafito y líquidos iónicos, con lo que obtienen una alta selectividad y una respuesta muy estable y sensible a la glucosa.

Se han descrito las bondades de las nanopartículas magnéticas, en especial de las ferritas (óxidos de hierro) y de las nanopartículas de níquel de manera individual. Con estos antecedentes, han surgido investigaciones usando óxidos mixtos Fe-Ni, es decir, materiales como la ferrita de níquel, que han sido utilizados con éxito como sensores de bajas concentraciones de cloro gas^[30].

La ferrita de níquel (NiFe_2O_4) como se mencionó en capítulos anteriores presenta una estructura de espinela inversa y muestra el fenómeno de ferrimagnetismo, ya que presenta antiparalelismo del momento de spin entre los iones de Fe^{3+} de los sitios tetrahédricos y los iones de Ni^{2+} de los sitios octahédricos^[31]. Una posible desventaja, que está siendo paralelamente estudiada es la citotoxicidad de estos materiales^[32], sin embargo, una posibilidad para evitar este problema es recubrirlas con materiales

biocompatibles como el quitosan (CHIT) o formar compositos con materiales semiconductores inertes o preciosos ^[33].

Por todas las características ya descritas de la ferrita de níquel, resulta prometedor pensar en explorar este material como sensor de glucosa y metanol.

4.3 Desarrollo experimental

Para este estudio se utilizaron las nanopartículas de ferrita de níquel sintetizadas electroquímicamente, como se describe en el capítulo 2 y que de acuerdo con los resultados de la caracterización, son las que presentan las mejores propiedades físico-químicas.

4.3.1 Preparación del sensor amperométrico de glucosa y metanol.

Para diseñar el sensor, se preparó inicialmente un electrodo de pasta de carbono 30% en peso de ferrita de níquel, 30 % carbón vulcan y 40 % de aceite mineral como aglutinante. La mezcla se compactó perfectamente en el interior de un tubo hueco de teflón, con un tornillo que entró en contacto con la pasta. El área activa del electrodo fue de 0.071 cm^2 .

Las soluciones de glucosa se prepararon a diferentes concentraciones en buffer pH 7.4. Para el estudio de los posibles interferentes en la detección de glucosa, se utilizaron soluciones de ácido úrico ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$) (purified Prolab) y ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) (Panreac) en concentraciones de $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ en buffer de fosfatos pH 7.4.

A efectos de comparación de la respuesta del sensor, se preparó un electrodo de pasta de carbono y nanopartículas de ferrita de níquel en las condiciones descritas y sobre la

superficie se depositaron 10 μL de una solución de glucosa oxidasa en buffer de fosfatos pH 7.4, para lo cual se diluyeron 4.5 mg de GOx en 300 μL de tampón.

La Glucosa Oxidasa (GOx) es una enzima que proviene de dos fuentes principales *Penicillium Amagasakinense* ^[34, 35] y *Aspergillus Niger* ^[36, 37]. La GOx es una enzima ampliamente utilizada para varias aplicaciones comerciales, principalmente en los biosensores, para la determinación cuantitativa de glucosa en sangre y así monitorear la diabetes. Además se utiliza para determinar la glucosa en las bebidas y para la fermentación de licor. Es ampliamente utilizada en la industria alimenticia para la producción de ácido glucónico y en la conservación de los alimentos. La glucosa oxidasa es una glicoproteína estructuralmente rígida (figura 4.2) con un peso molecular de entre 152 000 y 186 000 Da, que consta de dos polipéptidos idénticos, que contienen cada uno un dinucleótido de flavina adenina (FAD) en su centro redox. Estos centros son los encargados de la transferencia electrónica de la glucosa a glucolactona ^[38, 39].

La glucosa de la solución reacciona con el oxígeno disuelto en presencia de la GOx para producir glucolactona y H_2O_2 , esta reacción ocurre sobre la superficie del electrodo como se muestra en la figura 4.3.

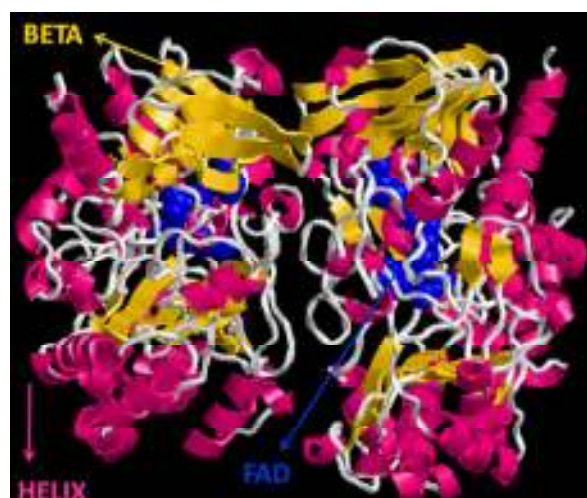


Figura 4.2. Estructura de la enzima Glucosa Oxidasa (GOx)

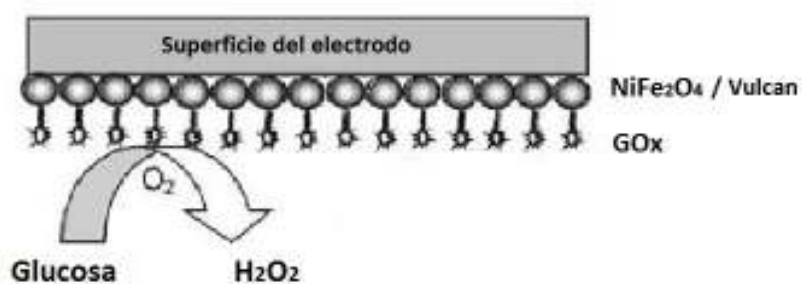


Figura 4.3. Diagrama del sensor enzimático de glucosa y su interacción con la solución

En el caso del metanol, la oxidación directa del mismo se realizó en medio básico, por lo que se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de metanol en una solución 0.1 M de NaOH (Sigma-Aldrich).

4.3.2 Medidas electroquímicas

Para determinar la viabilidad del biosensor se emplearon las técnicas electroquímicas más frecuentes para este tipo de análisis, como son la voltametría cíclica y la cronoamperometría.

4.3.3 Voltametría cíclica

Esta técnica se basa en aplicar un barrido de potencial al electrodo de trabajo tanto en el sentido directo como en el inverso, es decir realizando lo que se denomina barrido triangular de potencial. Mediante esta técnica se registra la variación de la corriente a medida que se modifica el potencial.

Esta prueba se realizó en una celda convencional de tres electrodos. Como electrolito se utilizaron soluciones de glucosa o de metanol. Para el primer caso se emplearon soluciones de glucosa (sigma- aldrich) a diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 500 mM) en buffer de fosfatos pH 7.4. En el caso del metanol (Merck 98 %), la oxidación se lleva a cabo en medio básico, por lo que se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de metanol en una solución 0.1 M de NaOH (Sigma-Aldrich). Las voltametrías se realizaron en un potenciostato AUTOLAB 30 en una ventana de potencial de 1.2 a - 0.2 V. La celda electroquímica que se utilizó (figura 4.4) consta de un electrodo de calomelanos saturado (SCE) como electrodo de referencia, como contraelectrodo se utilizó una lámina de platino y como electrodo de trabajo, el electrodo de pasta de carbono (EPC) modificado con ferrita de níquel.

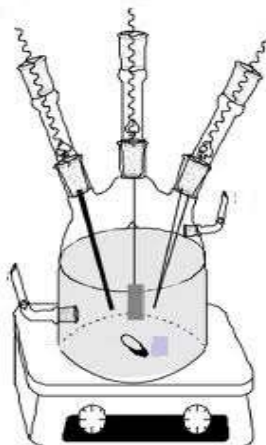


Figura 4.4 Esquema de la celda electroquímica convencional empleada para realizar la voltametría cíclica

4.3.4 Cronamperometría

La cronoamperometría es una técnica electroquímica en la que se aplica un potencial escalonado al electrodo de trabajo y la corriente resultante de los procesos faradáicos se evalúa en función del tiempo. Por lo general esta técnica se emplea para determinar el coeficiente de difusión de las especies electroactivas o el área superficial del electrodo de trabajo. En el área de química analítica se emplea para estudiar los mecanismos de los procesos que suceden sobre el electrodo ^[40].

La cronoamperometría se utilizó para evaluar la capacidad de detección de analitos como glucosa, metanol e interferentes (ácido úrico y ácido ascórbico). Para ello se empleó una pequeña celda electroquímica con un volumen de trabajo de 10 mL. Todas las medidas electroquímicas se realizaron en un potenciostato / galvanostato AUTOLAB 30

4.4 Resultados

Esta sección de resultados, se ha estructurado en diversos bloques, la primera parte corresponde a la caracterización electroquímica de la ferrita de níquel en glucosa, para determinar las condiciones óptimas para la elaboración del sensor amperométrico para la detección de este analito. Una vez fijados todos los parámetros, se presenta la respuesta del sensor a la oxidación directa de glucosa. Posteriormente se compara esta respuesta con los resultados obtenidos para los sensores enzimáticos: (Carbono/ GOx y Carbono/ferrita de níquel/GOx), para determinación de glucosa.

Finalmente se exponen las mejores condiciones de trabajo y la respuesta amperométrica del sensor para la detección de metanol.

4.4.1 Oxidación de glucosa

En primer lugar se hizo un estudio de la oxidación de glucosa empleando como electrodo de trabajo un electrodo de pasta de carbono (100%) o de nanopartículas de ferrita de níquel con nujol (100%) En la figura 4.5 se muestra el comportamiento de ambos electrodos, no observándose ninguna señal que indique un proceso de oxidación.

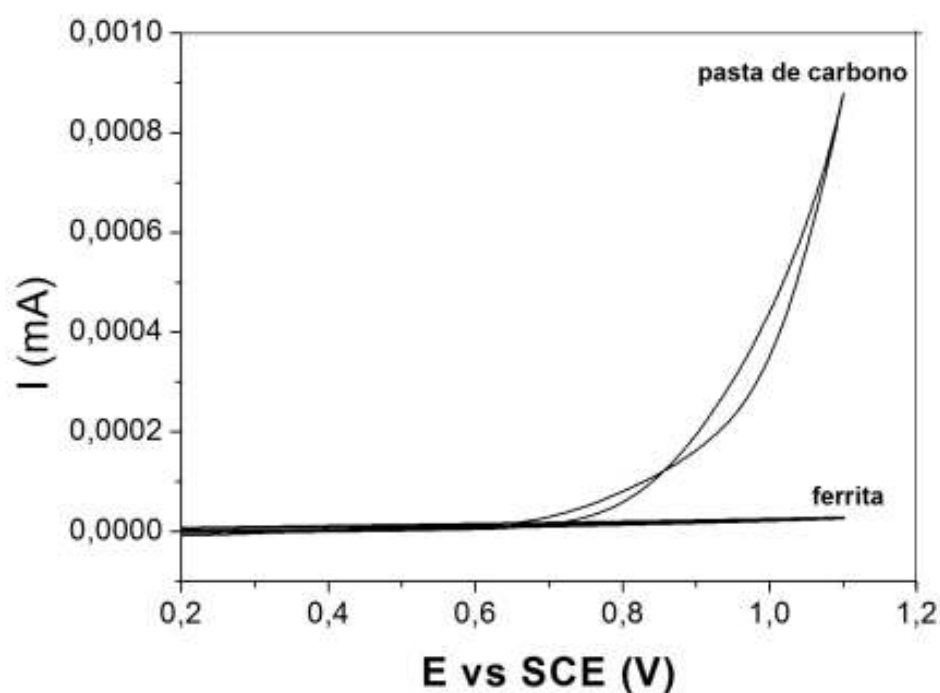


Figura 4.5. Voltamogramas cíclicos de una solución de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s⁻¹, empleando un electrodo de carbón vulcan o de ferrita de níquel.

Queda claro que de manera individual, ninguno de los dos materiales responde ante la presencia de glucosa en la solución. Por ello se realizó un estudio mezclando en diferente proporción ambos materiales. Los resultados se muestran en la figura 4.6. Donde observamos que la corriente del pico de oxidación se incrementa al aumentar la cantidad de ferrita en el electrodo hasta un valor máximo del 50 % en peso con respecto al carbón vulcan, por encima de este valor disminuye la actividad catalítica de este material para la oxidación de glucosa, como se mostró en la figura 4.5 en la que el electrodo del 100 % de ferrita no presenta respuesta a la glucosa. Al aumentar la cantidad de ferrita que es un nanomaterial semiconductor, se disminuye la conductividad del composite, produciendo un aumento de la resistencia a la transferencia electrónica causando como consecuencia

una disminución de la corriente de oxidación. Estos estudios indican que una relación 50 – 50 % de carbón y ferrita es el adecuado para obtener la máxima respuesta catalítica, que produce una corriente máxima de 0.038 mA a un potencial de oxidación de 0.76 V vs SCE. En la figura inserta (4.6 b), se observa que existe una relación lineal entre el incremento de la concentración de ferrita en el electrodo y la corriente máxima del pico de oxidación, hasta los valores indicados de 50 % de este material. Los valores obtenidos para la oxidación de glucosa empleando el electrodo del 50 % en peso, son comparables con los reportados por Castro Luna y col.^[41] para la oxidación de glucosa empleando Pt, Au o una mezcla Pt-Au como catalizador en medio ácido.

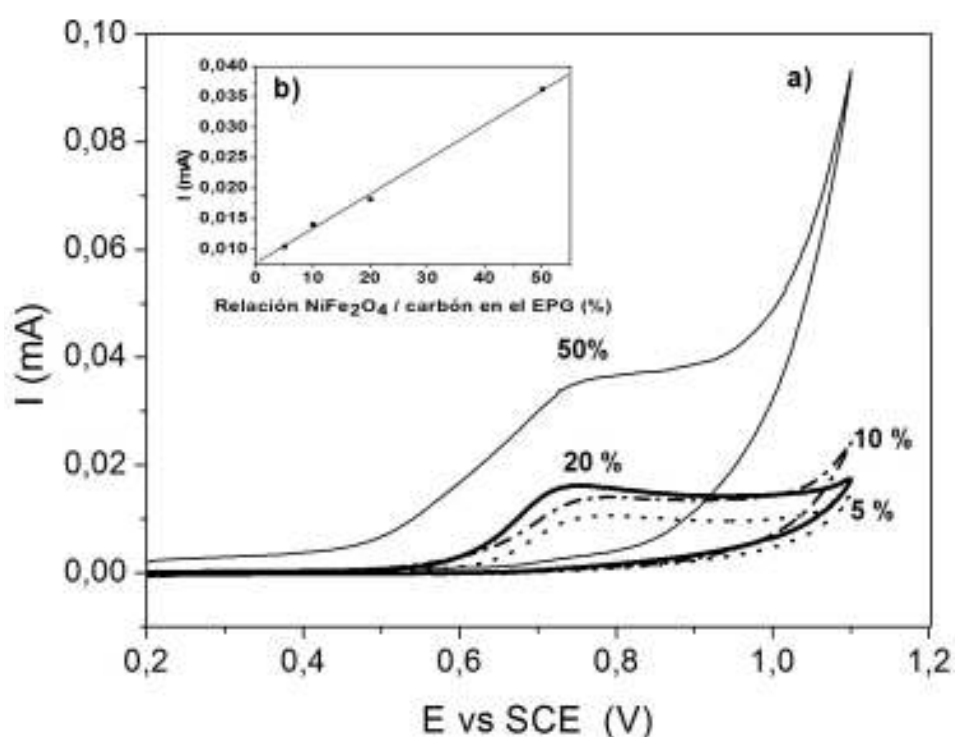


Figura 4.6. a) Voltamograma cíclico de la oxidación de una solución 10 mM de glucosa en buffer de fosfatos pH 7.4 en función de la cantidad de ferrita en el electrodo. b) Efecto de la concentración de ferrita en la corriente de oxidación.

Se estudió también el efecto de la concentración de glucosa, la figura 4.7, muestra que la corriente de pico de oxidación se reduce a concentraciones de glucosa superiores a los 10 mM. Es posible observar que la corriente aumenta hasta la concentración 10 mM y luego comienza a decrecer. Esto es debido a que los sitios activos de la superficie del electrodo se saturan con las moléculas de glucosa impidiendo que otras nuevas sean adsorbidas para reaccionar, como consecuencia de esto, la velocidad de oxidación disminuye.

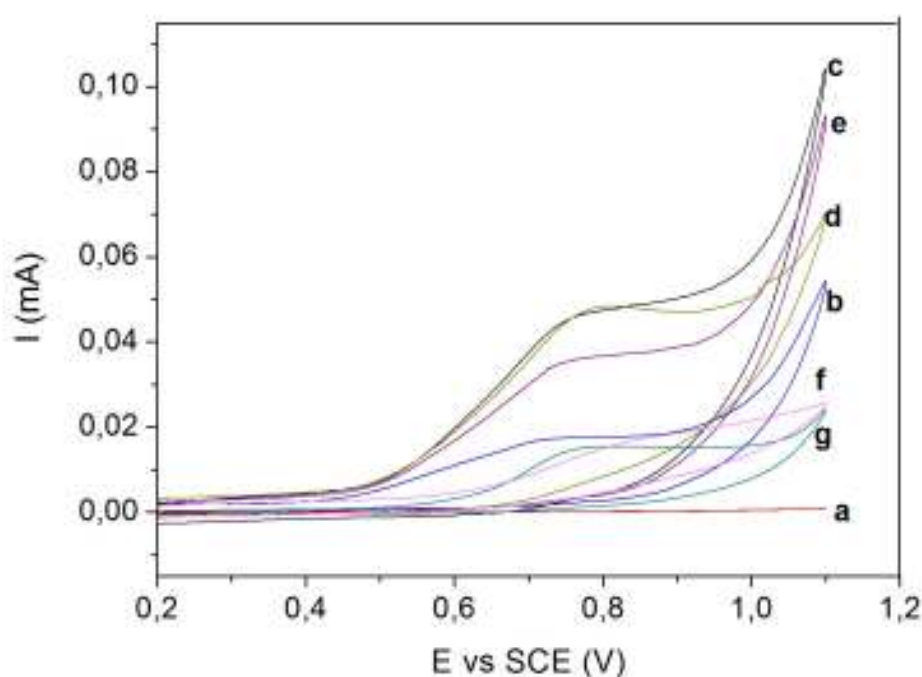


Figura 4.7. Voltamogramas cíclicos de la oxidación de glucosa en buffer de fosfatos pH 7.4 a) 0; b) 2; c) 5; d) 10; e) 50; f) 100 y g) 500 mM. Con el electrodo 50 % en peso de ferrita de níquel- carbón vulcan. Velocidad de barrido 20 mV s^{-1} .

La dependencia que existe entre la respuesta de oxidación de la glucosa sobre la superficie del electrodo (ferrita/ vulcan) y la velocidad de barrido a la que se realizó la caracterización electroquímica se muestra en la figura 4.8 a. Esta gráfica de i_p vs $v^{1/2}$ (figura

4.8 b) mostró una relación lineal, con un coeficiente de correlación de 0,99, lo que corresponde a un proceso controlado por difusión. Además, puede notarse que con el aumento de la velocidad, el potencial correspondiente al pico de corriente se desplazó a valores más positivos. Debido a que el proceso es controlado por difusión, un aumento de la velocidad de barrido produce un incremento en la energía necesaria (potencial) para que la especie pueda ser oxidada.

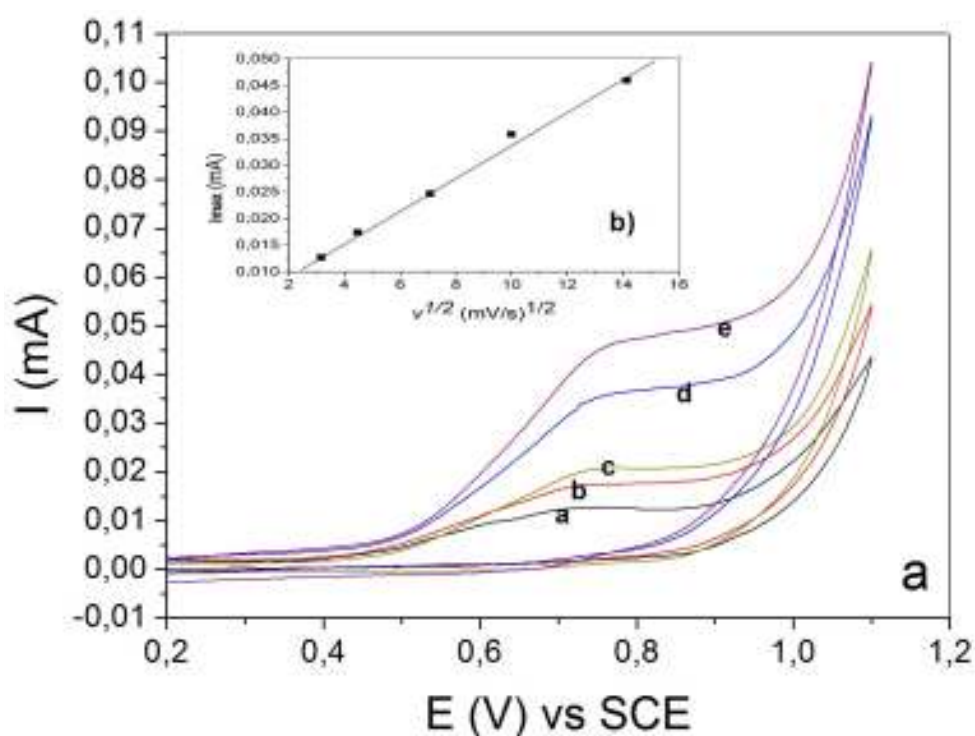


Figura 4.8. a) Voltagrama cíclico del electrodo de pasta 50 % en peso ferrita de níquel: carbón vulcan. Para la oxidación de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4. A diferentes velocidades de barrido a) 10, b) 20, c) 50, d) 100 y e) 200 mV s^{-1} . La figura inserta b) muestra la relación entre I_{max} vs $v^{1/2}$

Una vez estudiado el comportamiento catalítico de los electrodos con nanopartículas de ferrita de níquel y optimizadas las condiciones de trabajo, se exponen a continuación los resultados obtenidos para la detección de glucosa en electrodos tanto enzimáticos como

no enzimáticos. Se evaluaron aspectos como la sensibilidad, selectividad, límites de detección y estabilidad, todo ello mediante técnicas electroquímicas.

4.4.2 Sensor amperométrico para detección de glucosa

La determinación del potencial de trabajo aplicado al sensor, se efectuó a partir de los resultados que se muestran en la figura 4.9 que corresponde al estudio en régimen hidrodinámico del sensor de ferrita/vulcan (50% peso), con adiciones de glucosa de 50 μL para variaciones de concentración 0.1 mM. Como se puede observar, el aumento de la intensidad de corriente comienza a partir de +0.3 V, a valores más positivos de ese potencial se produce el proceso de oxidación de glucosa. A la vista de estos resultados se seleccionó como potencial de trabajo +0.6 V, que es un valor en el cual se puede conseguir una detección sensible de glucosa y al ser un valor intermedio, se espera minimizar el número de interferentes potenciales que puedan oxidarse sobre la superficie del electrodo durante la reacción de oxidación de la misma. Además de minimizar la relación señal/ruido.

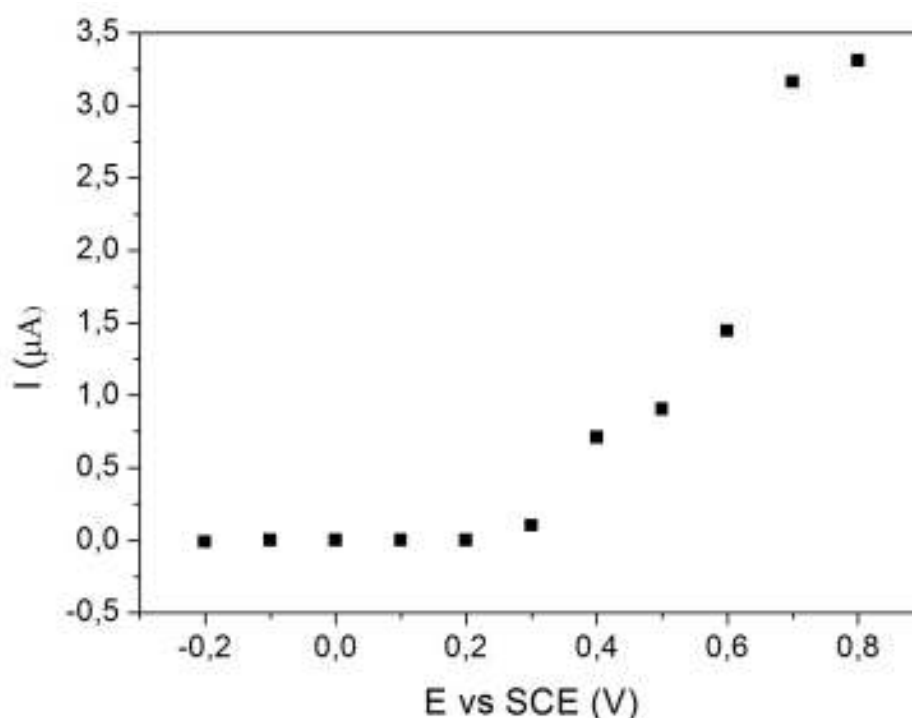


Figura 4.9 Estudio hidrodinámico de la variación en la intensidad de corriente para glucosa 0.1 mM sobre e electrodo ferrita/vulcan 50-50.

La figura 4.10 a) corresponde a las curvas amperométricas para el electrodo 50/50 en una disolución de 5 mL de buffer de fosfatos y haciendo adiciones de 50 μ L de glucosa 10 mM. Para favorecer el proceso de oxidación y que el proceso no sea controlado por difusión, todas las curvas amperométricas fueron realizadas en régimen hidrodinámico. Inserta en la figura 4.10 b) se representa la curva de calibrado que muestra el intervalo de concentración en el cual se obtiene una buena correlación lineal. A partir de esta gráfica, en el rango dinámico donde los puntos ajustan linealmente, es posible obtener los parámetros importantes en un sensor, como son el límite de detección (concentración que proporciona una señal diferente a la del blanco + tres veces la desviación estándar del blanco) y la sensibilidad (diferencia de concentración entre analitos, por lo general está

dada por la pendiente de la recta) cuyos valores son 0.127 mmol / L y $17 \mu\text{A}/\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ respectivamente.

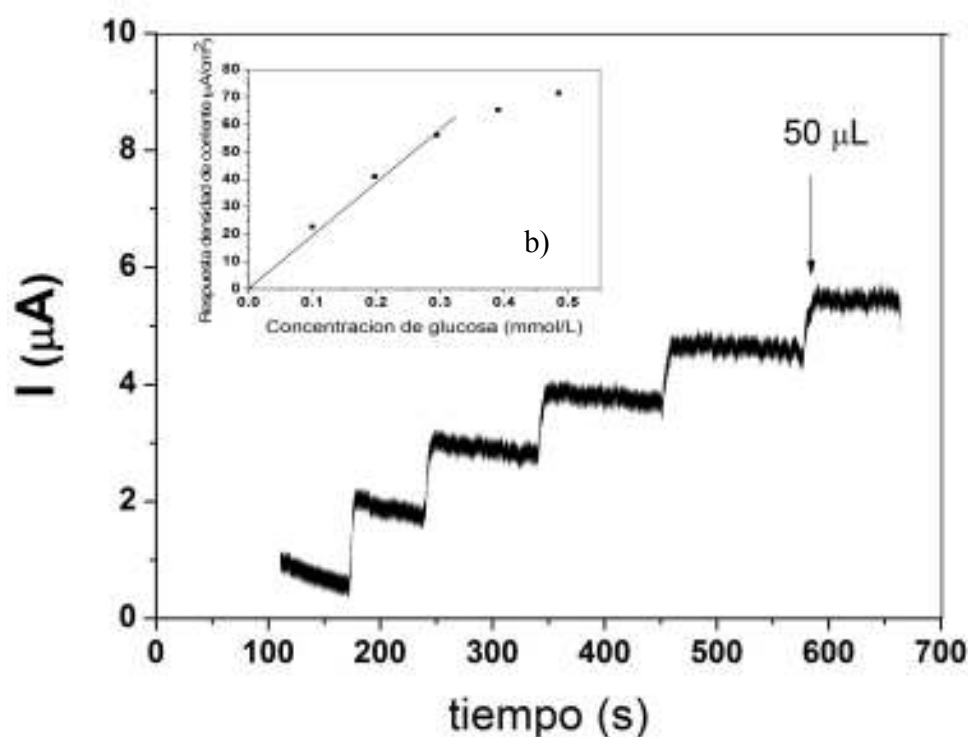


Figura 4.10. Amperometría en 5 mL de buffer de fosfatos pH 7.4 con 5 alícuotas de 50 μL , empleando el electrodo de pasta de carbono con ferrita de níquel. $E_{\text{ap}} = +0.6 \text{ V vs SCE}$

El sensor tiene una buena reproducibilidad puesto que es posible realizar al menos cinco mediciones sin necesidad de regenerar la superficie, debido a que las concentraciones de glucosa con las que se trabaja son muy pequeñas, dentro del intervalo de linealidad a 0.1 mM. Esto lo podemos ver en la figura 4.11, donde el valor máximo inicial de la corriente es de $2.1 \mu\text{A}$ y después de la quinta medición se alcanza una corriente máxima de $1.41 \mu\text{A}$, es decir disminuye un 29.5 % la capacidad de detección de glucosa, sin renovación de la superficie del electrodo.

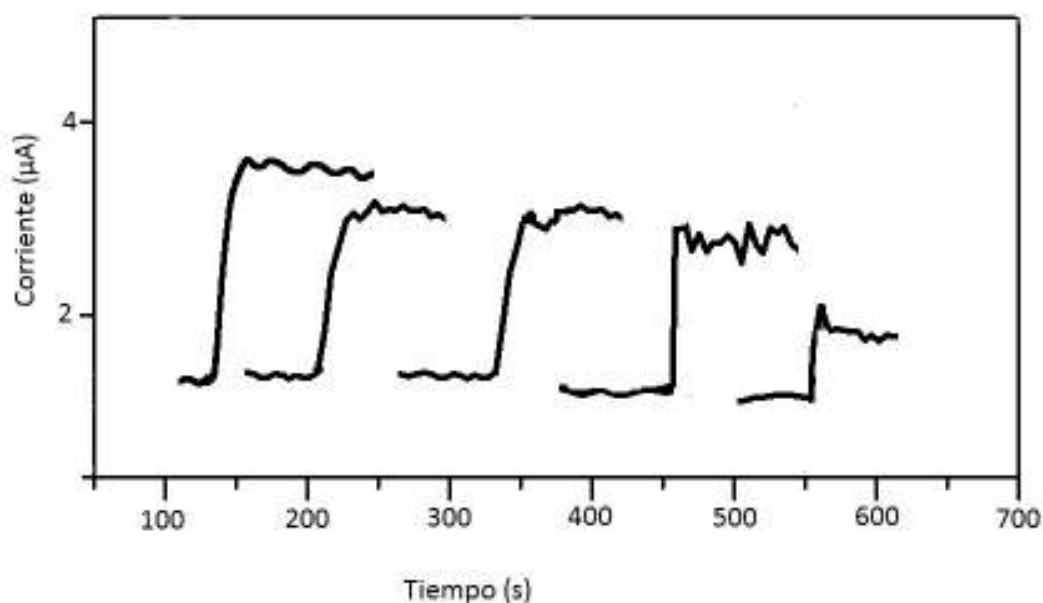


Figura 4.11 Señales amperométricas sucesivas obtenidas con una concentración 0.1 mM. $E_{ap} = +0.6$ V vs SCE.

Otro aspecto importante que se evaluó fue el tiempo de vida útil del sensor. En la figura 4.12 es posible observar la respuesta en la intensidad de corriente que se obtiene al probar el sensor después de varios días de haber sido preparado. El primer día se obtiene una corriente máxima de 2.4 μA que se mantiene hasta el tercer día para una concentración de 0.5 mM de glucosa en buffer de fosfatos. Después de diez días la corriente muestra un ligero descenso hasta un valor de 1.39 μA , es decir se disminuyó un 42.1 % la respuesta. La estabilidad de este sistema con el tiempo es aceptable, sin necesidad de aplicar ningún pretratamiento o limpieza entre cada una de las medidas. El electrodo fue almacenado después de cada análisis en una solución tampón a 3 °C durante los diez días.

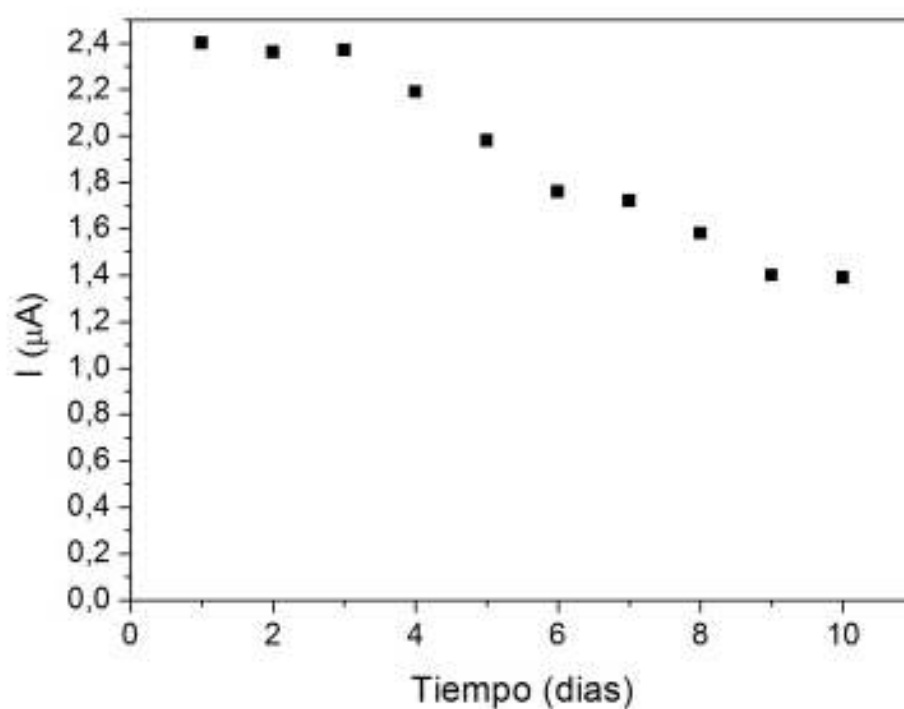


Figura 4. 12 Gráfica de control para evaluar la estabilidad del sensor ferrita/ vulcan con el tiempo, en una concentración 0,1 mM de glucosa. $E_{ap} = + 0.6 \text{ V vs SCE}$.

Para verificar la selectividad del sensor se estudió el efecto de la presencia del ácido úrico y ascórbico, que son dos de las sustancias que comúnmente coexisten con la glucosa en muestras biológicas reales por lo que se consideran interferentes potenciales [6, 33, 42]. La amperometría de la figura 4.13 muestra que no hay respuesta a la concentración final $5 \times 10^{-3} \text{ mM}$ de ácido úrico en buffer de fosfatos pH 7.4, Sin embargo, al adicionar 50 μL de glucosa en la misma concentración, la respuesta es inmediata dando una señal de alrededor de $0.7 \mu\text{A}$.

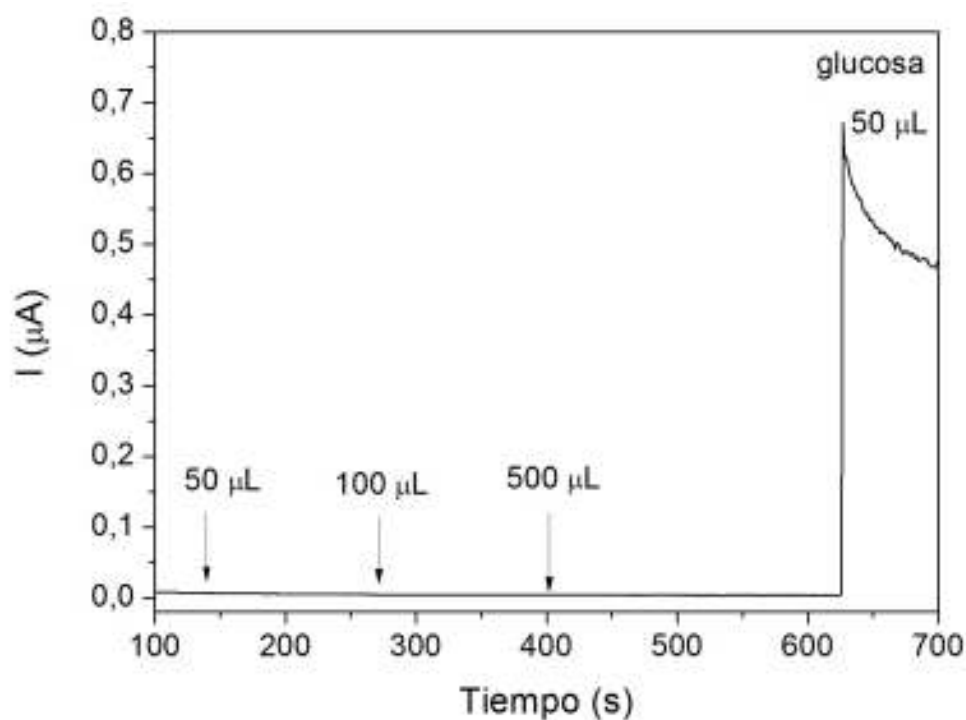


Figura 4.13 Cronoamperometría para evaluar la selectividad del sensor ferrita/ vulcan en presencia de ácido úrico y glucosa 0.005 mM en buffer de fosfatos. $E_{ap} = + 0.6 \text{ V vs SCE}$.

La figura 4.14 muestra los resultados de las adiciones del ácido ascórbico. Las concentraciones de trabajo son las mismas que en el caso anterior. En esta ocasión se observó una ligera respuesta a las adiciones, sin embargo son despreciables en comparación a la respuesta obtenida al agregar glucosa en la misma concentración. Pues en el caso del ascórbico se registra una señal de 0.012 μA , mientras que la glucosa alcanza hasta 0.63 μA .

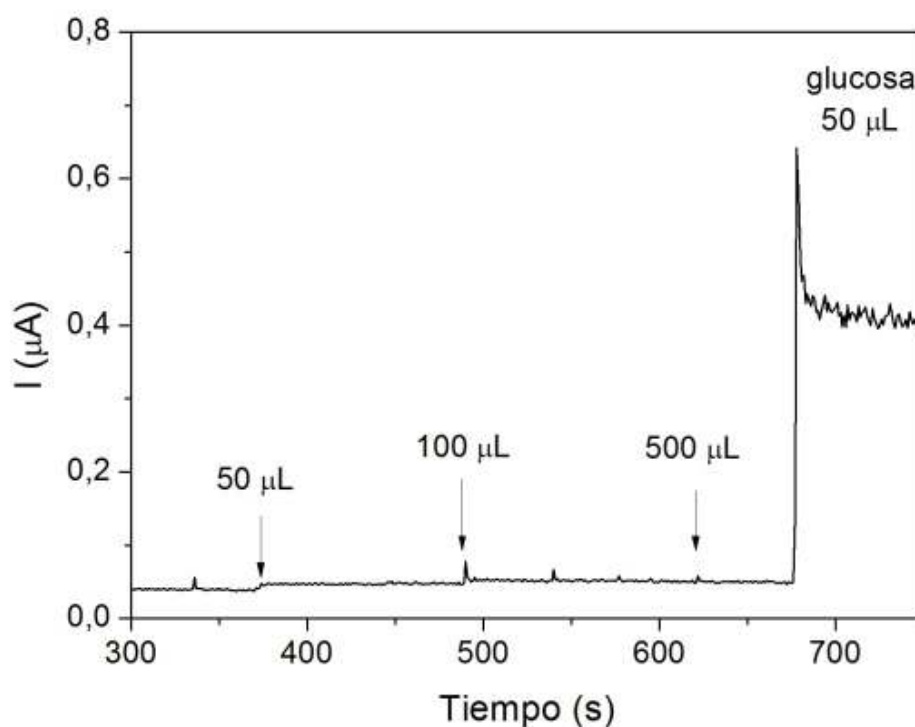


Figura 4.14 Cronoamperometría para evaluar la selectividad del sensor ferrita/ vulcan en presencia de ácido ascórbico y glucosa 0.005 mM en buffer de fosfatos. $E_{ap} = + 0.6 \text{ V vs SCE}$.

4.4.3 Sensor enzimático para la detección de glucosa

La respuesta típica corriente vs tiempo para la detección de glucosa cuando se adiciona la enzima al electrodo, se muestra en la figura 4.15 a). Con la sucesiva adición de 50 μL de glucosa 10 mM en 5 mL de buffer de fosfatos la respuesta amperométrica del sensor (ferrita / vulcan/ GOx) a +0.6 V se incrementa linealmente en un intervalo de 9.9×10^{-5} a $4.2 \times 10^{-4} \text{ mM/L}$, con un factor de correlación de 0.995. El límite de detección de 2.7 mmol/L y la sensibilidad de $1.62 \mu\text{A mL}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, que se calcularon a partir de la relación que se muestra en la gráfica inserta en la figura 4.15 b), que corresponde a la curva de calibrado.

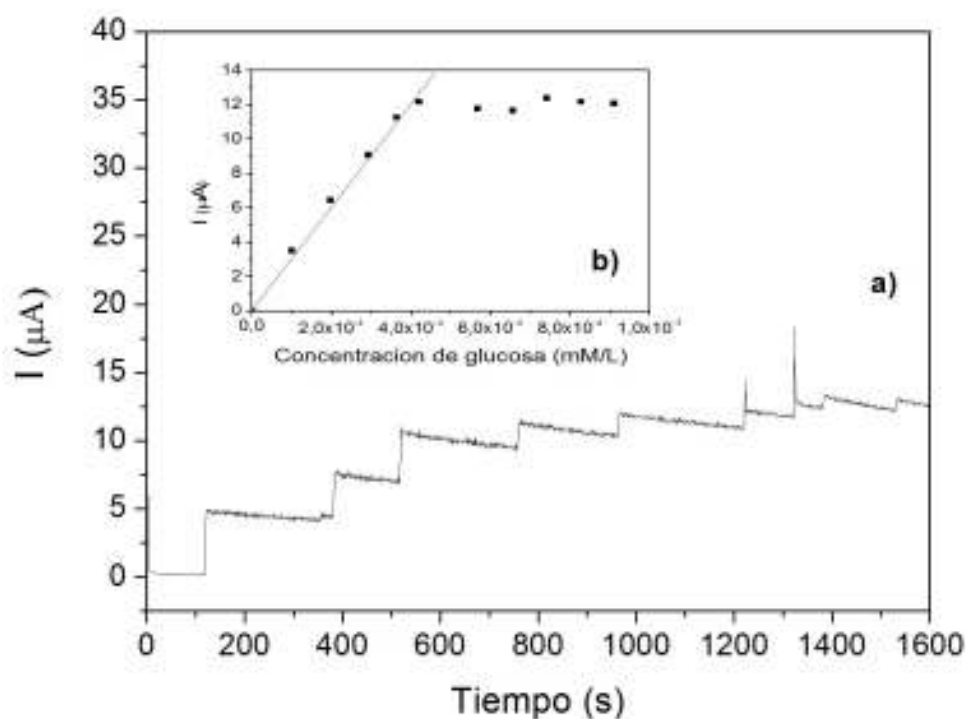


Figura 4.15. Cronoamperometría en 5 mL de buffer de fosfatos pH 7.4 con alícuotas de 50 μL , empleando el electrodo de pasta de carbono, ferrita de níquel y GOx. $E_{\text{ap}} = +0.6 \text{ V vs SCE}$.

Uno de los inconvenientes de los dispositivos enzimáticos es la baja reproducibilidad e inestabilidad debida a la presencia de la enzima biológica. En la figura 4.16 se muestra el estudio de reproducibilidad del sensor ferrita/ vulcan/ GOx. Se realizaron cinco mediciones a las mismas condiciones, sin renovar la superficie entre cada una. La respuesta inicial es de 4 μA y después de cinco análisis existe una pérdida de respuesta del 56.4%, casi el doble de la pérdida observada en ausencia de la enzima, lo que atribuimos por una parte a la saturación de la superficie del electrodo y por otra a la pérdida de efectividad catalítica de la enzima, sumándose dichos efectos.

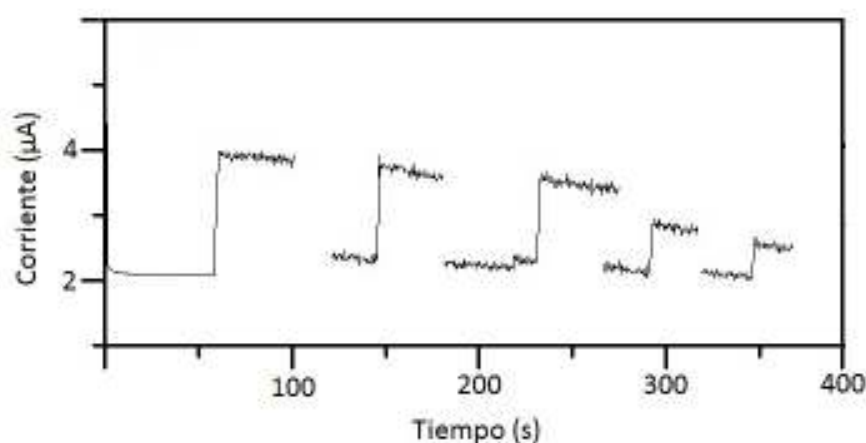


Figura 4.16 Reproducibilidad del electrodo ferrita/ vulcan/ GOX con la adición de 50 μL de glucosa 10 mM en 5 mL de buffer de fosfatos. $E_{ap} = +0.6 \text{ V vs SCE}$

El estudio de la estabilidad del electrodo con el tiempo se realizó durante diez días y los resultados se exponen en la figura 4.17. El electrodo fue guardado en solución buffer de fosfatos pH 7.4 a 3°C . Los tres primeros días las eficiencias prácticamente son iguales, el porcentaje de disminución, es de un 5 % y en el día 9 y 10 se observa una disminución en la respuesta cercana al 58 %, también ligeramente superior al que se observa si no se adiciona la enzima al electrodo. Por lo que se puede decir, que la mayor estabilidad del biosensor se presenta en los primeros cinco días de haber sido preparado, durante este periodo muestra muy poca variación en la respuesta a la glucosa.

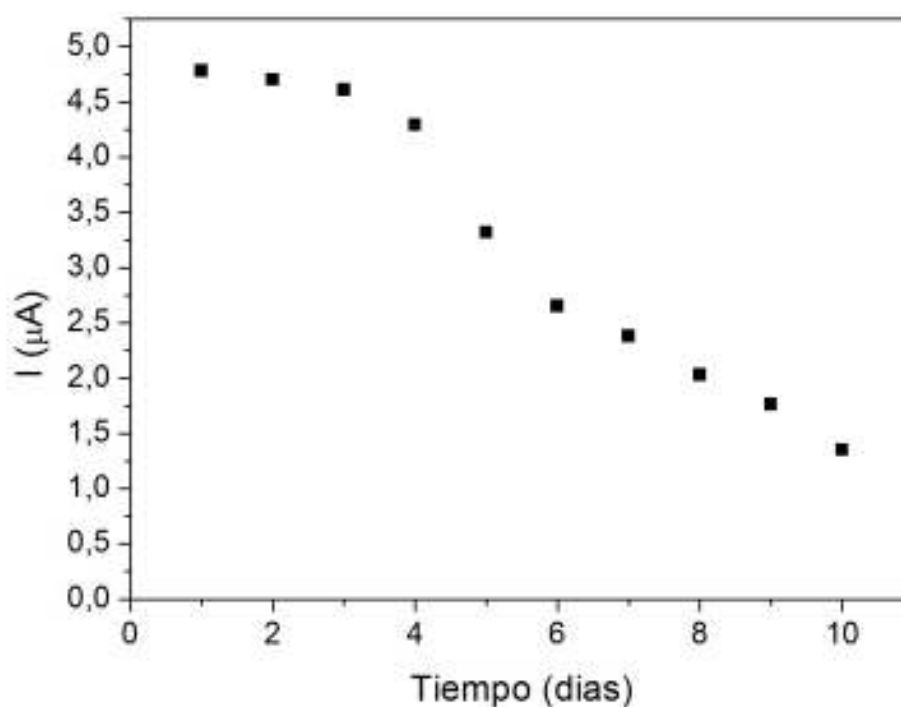


Figura 4.17 Gráfica de control para evaluar la estabilidad del sensor ferrita/ vulcan/ GOx, con el tiempo, en una concentración 0.1 mM de glucosa en tampón. $E_{ap} = + 0.6 \text{ V vs SCE}$.

En comparación el biosensor enzimático da mejor sensibilidad y respuesta a la oxidación de glucosa, sin embargo presenta el inconveniente de su pérdida de actividad con el tiempo, debido a la presencia de la GOx, que posiblemente se desnaturaliza. Ante esto, una alternativa será optimizar el método de inmovilización de la enzima sobre las nanopartículas magnéticas.

4.4.4 Resultados oxidación de metanol

Se realizaron los primeros estudios empleando disoluciones de metanol en tampón buffer de fosfatos a pH 7.4, estos estudios no mostraron ninguna respuesta del electrodo a la oxidación de este compuesto.

La oxidación del metanol depende fuertemente del pH, por lo que se realizaron los primeros estudios variando el pH del medio, los resultados se muestran en la figura 4. 18 a. El incremento del pH aumenta progresivamente y de forma exponencial los valores de corriente de oxidación (figura 4.18 b). Por lo tanto se seleccionó el pH de 14 para realizar los estudios posteriores.

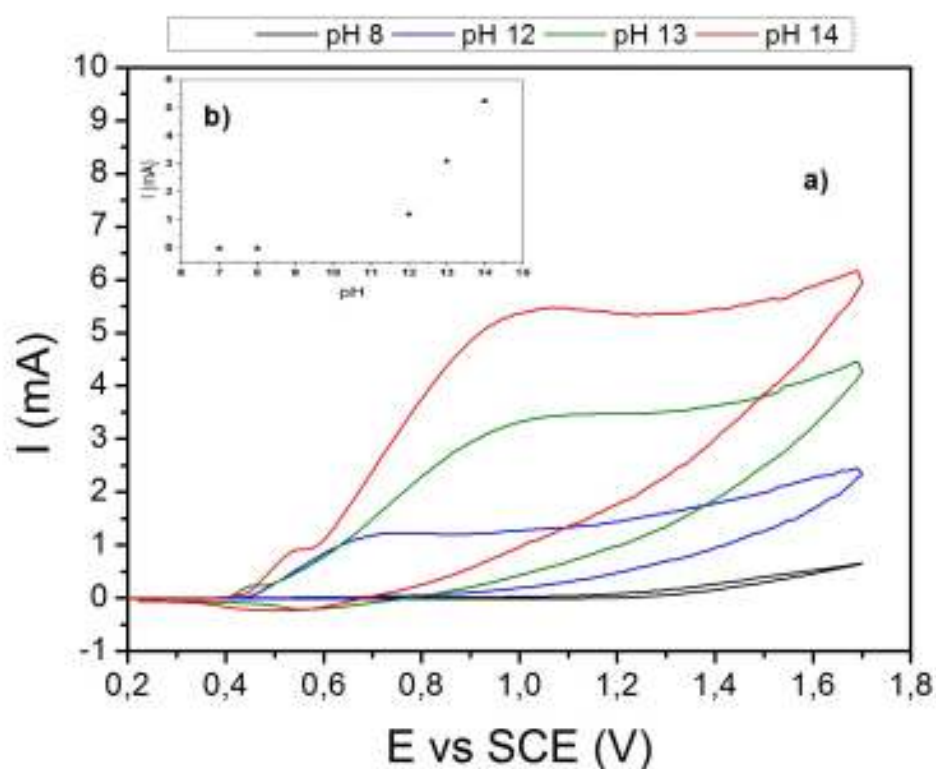


Figura 4.18 a) voltamogramas cíclicos de metanol 10 mM en 0.1 M NaOH a diferentes valores de pH empleando un electrodo de pasta de carbono + ferrita de níquel. b) Relación entre la corriente de oxidación y el pH de la solución.

El efecto de la concentración de metanol en la solución, empleando el electrodo 50% (ferrita/ vulcan), se representa en la figura 4.19. Los resultados muestran un comportamiento similar al del caso de la glucosa, recordando este fenómeno, la corriente

de oxidación disminuye al aumentar la concentración más allá de 50 mM. Este valor máximo, es superior al obtenido para el caso de la glucosa. La molécula de metanol es de menor tamaño y aunque de igual manera se adsorba sobre la superficie activa del electrodo, la saturación se produce a mayores concentraciones.

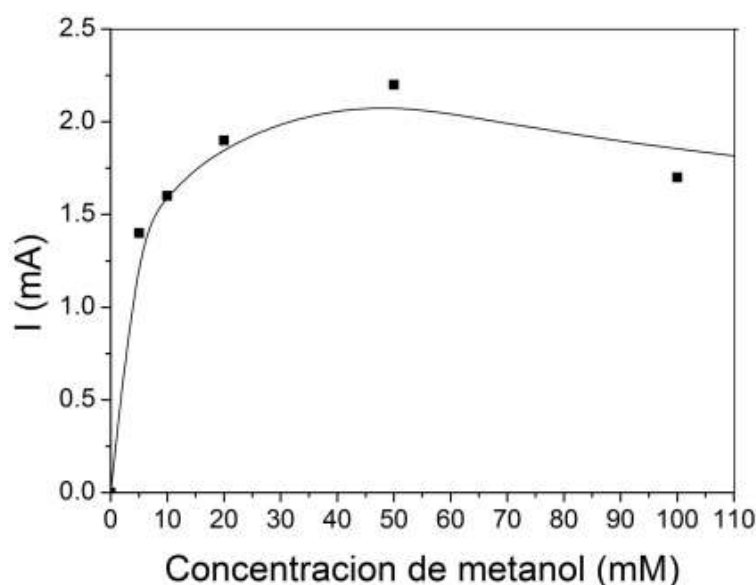


Figura 4.19 Corriente de oxidación vs concentración de metanol (0, 5, 10, 20, 50, 100 mM) en una solución 0.1 M NaOH (pH 14) empleando un electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan)

La velocidad de barrido influye de manera directa en la intensidad de corriente en el pico de oxidación de metanol, como se muestra en la figura 4.20 a), se variaron las velocidades de barrido entre 10 y 200 mV s^{-1} . Como se puede observar se produce un aumento de la corriente de oxidación, así como un desplazamiento del máximo de corriente hacia potenciales más positivos. Al igual que en la figura 4.18 a, entre 0.3 y 0.6 V se observan unas señales de oxido-reducción con valores de baja intensidad de corriente que

corresponden al comportamiento Ni presente en la muestra en medio básico, como se muestra en la figura 4.20 b.

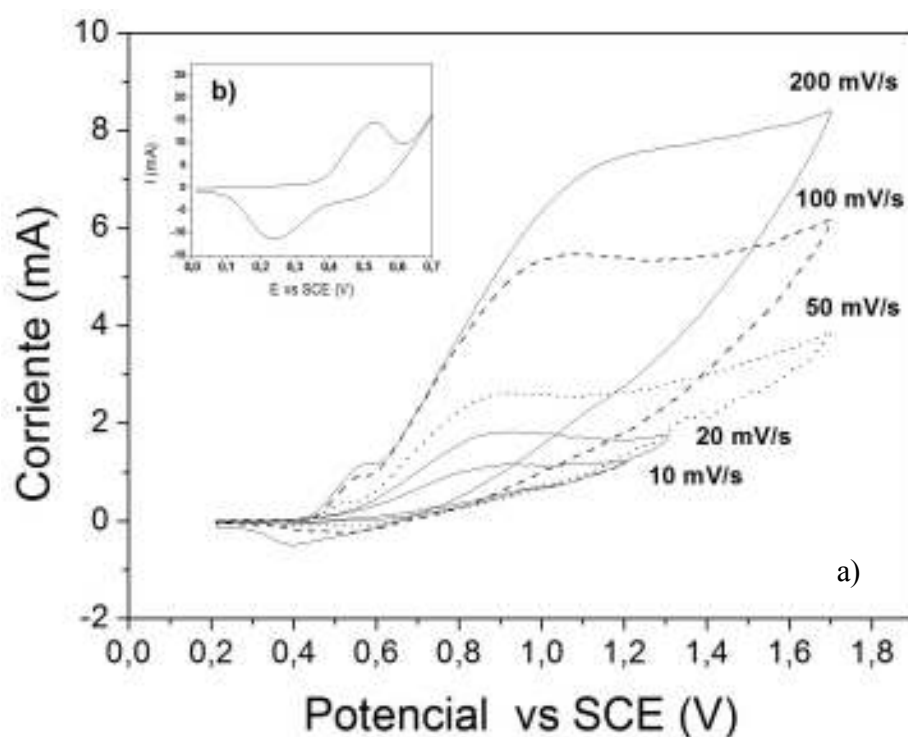


Figura 4.20 Voltamograma cíclico de: a) electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan) en una solución 50 mM de metanol en sosa 0.1 M a diferentes velocidades de barrido. b) electrodo de Ni en NaOH 0.1 M.

De acuerdo con los resultados de este apartado, se propuso un mecanismo de reacción para la oxidación catalítica del metanol en medio básico. La figura 4.21 esquematiza la manera en que reacciona el metanol sobre la superficie del electrodo de pasta que contiene nanopartículas de ferrita de níquel.

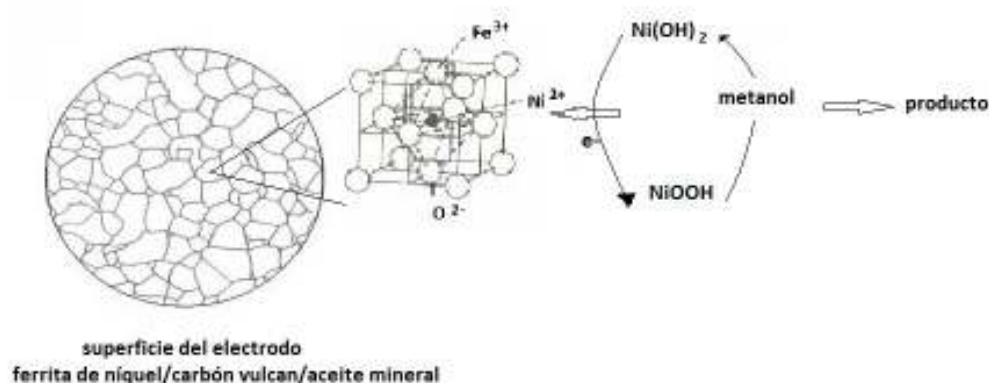


Figura 4.21. Mecanismo de reacción entre la solución de metanol y la superficie del electrodo de pasta de carbono 50-50 % (ferrita de níquel/carbón vulcan)

De acuerdo con los resultados obtenidos, se propone que la reacción de oxidación catalítica de metanol tiene lugar cuando las especies de oxi-hidróxido (NiOOH) comienzan a formarse electroquímicamente debido la oxidación anódica de hidróxido de níquel ($\text{Ni}(\text{OH})_2$) en la superficie de las nanopartículas. La formación de los hidróxidos de níquel se produce sobre los iones Ni^{2+} de la espinela de ferrita que se encuentran en contacto con la disolución de metanol.

4.4.5 Sensor para detección de metanol

Por medio de los datos que se muestran en la figura 4.22 se determinó el potencial de trabajo para llevar a cabo la caracterización del sensor de metanol. Se observa que la oxidación comienza a partir del potencial +0.5V, que es el que se seleccionó para los análisis posteriores. Este potencial se seleccionó porque es al cual se presenta la mayor respuesta amperométrica, a potenciales por encima de este valor la respuesta en la

corriente es la misma. Se probaron potenciales menores, comprobando que la respuesta señal/ruido era muy pequeña.

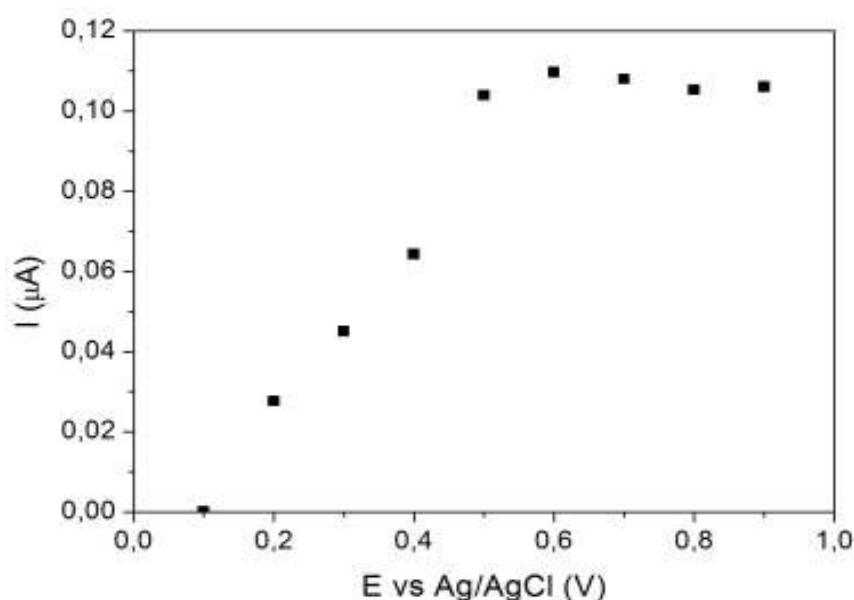


Figura 4.22 Estudio hidrodinámico de la variación en la intensidad de corriente para metanol 0.1 mM en sosa 0.1 M sobre el electrodo ferrita/vulcan (50-50)

Se realizaron posteriormente curvas amperométricas las cuales se muestran en la figura 4.23. Se añadieron alícuotas de (50, 100, 200 y 500 μ L) de una solución de metanol 50 mM. Podemos observar que las respuestas obtenidas son de baja intensidad. Sin embargo la respuesta es inmediata a cada adición, la señal es clara y bien definida y las perturbaciones o ruido son mínimas, además los tiempos para estabilizarse entre cada adición son de alrededor de 100 s, por lo que podemos decir, que el sensor es estable en pH básicos y de respuesta relativamente rápida.

En la gráfica de la figura 4.24 se presenta la curva de calibración para el metanol. Es posible observar una correspondencia lineal con un coeficiente de correlación de 0.994 y

un intervalo de linealidad entre 5×10^{-4} a 5×10^{-3} mM/L. El límite de detección de 0.051×10^{-3} mmol/ L y la sensibilidad de $102.5 \mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^{-2}$

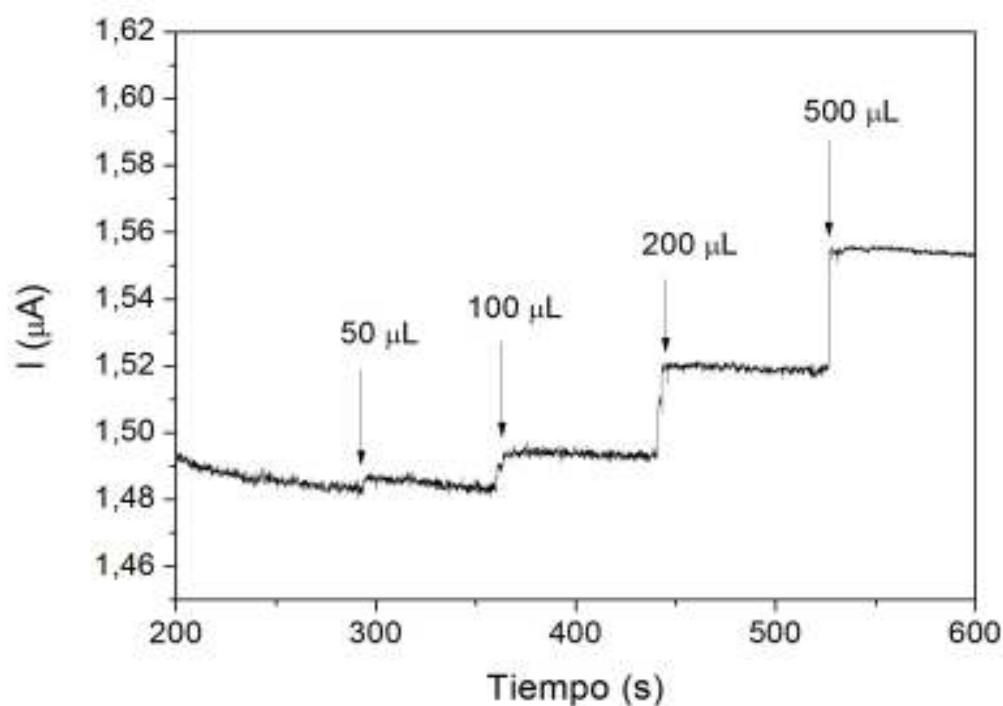


Figura 4.23 Amperometría con alícuotas de diferente volumen de metanol 50 mM en pH 14, empleando el electrodo de pasta de carbono, ferrita de níquel. $E_{ap} = +0.5$ V vs SCE

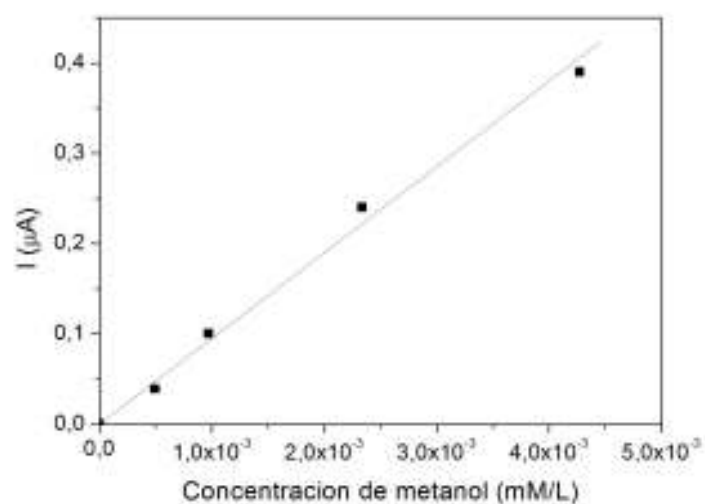


Figura 4.24 Intervalo de linealidad para el sensor ferrita/ vulcan en metanol. Curvas amperométricas en 5 mL de buffer de. $E_{ap} = +0.6$ V vs SCE

En comparación con lo reportado por D. S Park y col. ^[43], para un sensor de metanol que emplea un electrodo de NPs Pt/ sílice, el dispositivo que aquí se presenta basado en NPs de ferrita de níquel resulta competitivo, Park y col. reportan un límite de detección de 1×10^{-4} mmol/L y una estabilidad de 40 horas por el envenenamiento de la superficie de las NPs de Pt, que además es un material de alto costo.

4.5 Conclusiones parciales

- La ferrita de níquel obtenida por vía electroquímica tiene gran actividad catalítica en los procesos de oxidación de glucosa y metanol. Por lo tanto resulta un material prometedor para la construcción de sensores amperométricos de glucosa, obteniendo valores de límites de detección, sensibilidad y selectividad prometedores y comparables a los que existen en la literatura.
- Por otro lado, además de ser catalítico para estas reacciones, el electrodo modificado con ferrita de níquel puede emplearse como soporte para la inmovilización de enzimas, específicamente la GOX.
- Con base a los resultados es posible observar que aun cuando el electrodo modificado cataliza tanto la reacción de oxidación glucosa como la de metanol, las mejores respuestas amperométricas se obtienen para el caso de la glucosa.

4.6 Referencias del capítulo

- [1] M. Gamella, Tesis Doctoral Sistemas (Bio)Sensores para la Monitorización de Parámetros Químicos Asociados a la Calidad y Seguridad Alimentaria, (2010)
- [2] M. Vázquez, A. Asenjo, M.P. Morales, K. R. Pirota, G. Badini-Confalonieri, M. Hernández- Vélez, “ Sensors Based on Nanostructured Materials”, F. J Arregui (ed.), 1a edition, Spain, chapter 7, (2009).
- [3] S. T. Smith, R. M. Seugling, Precision Engineering **30** (2006) 245–264.
- [4] Y. Zhuo, P-X Yuan, R. Yuan, Y-Q Chai, C-L Hong, Biomaterials **30** (2009) 2284–2290.
- [5] Y. Gao, G. Wang, H. Huang, J. Hu, S. M. Shah, X. Su, Talanta **85** (2011) 1075 – 1080
- [6] X. Zhi-Gang, L. Jian-Ping, T. Li, C. Zhi-Qiang, Chin. J. Anal. Chem., **38(6)** (2010) 800–804.
- [7] K.M. El Khatiba, R.M. Abdel Hameed. Biosens. Bioelectron. **26** (2011) 3542–3548.
- [8] M. Trojanowicz, M. Kaniewska, Electroanal., **21** (2009) 229-234.
- [9] S. Bisht, G. Feldmann, S. Soni, R. Ravi, C. Karikar, A. Maitra, A. Maitra, J Nanobiotech., **5** (2007)167- 171.
- [10] A. Sassolas, L. J. Blum, B. D. Leca-Bouvier. Biotechnol. Adv. **30** (2012) 489–511.
- [11] J. Wang, J. Liu, G. Cepre, Anal. Chem. **69** (1997) 3124-3127.
- [12] Z. Yang, S. Si, C. Zhang, Biochem. Biophys. Res. Commun. **367** (2008) 169–175.
- [13] F. N. Comba, M. D. Rubianes, L. Cabrera, S. Gutierrez, P. Herrasti, G. A. Rivas, Electroanal. **22**, (2010) 1566 – 1572.
- [14] H. Yong-Min, J. Young-Wook, S. Ho-Taek, K. Sungiun, C. Jin-sil, L. Jae-Hyun, Y. Sarah, K. Kyung-Sup, S. Jeon-Soo, S. Jin-Suck, C. Jinwoo., J. Ame. Soc., **127**, (2005) 12387 - 12391.

- [15] Pankhurst Q.A., Conolly J., Jones S. K., Dobson J., J. Phys D:App. Phys., **36** (2003) R167-R189.
- [16] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, E. Reimhult,, Sensors., **8** (2008)1400 - 1410.
- [17] S. H. Gee, Y.K. Hong, D.W. Erickson, M.H. Park, J. Appl. Phys., **93 (10)** (2003) 7560-7566.
- [18] H. Wei, E. Wang,, Anal. Chem., **80**, (2008)2250 - 2256.
- [19] A. Ramanavicius, A. Kausaite, A. Ramanaviciene,. The Analyst., **16, 133** (2008) 1083 – 1087.
- [20] L. Luo, L. Zhu, Y. Xu, L. Shen, X. Wang, Y. Ding, Q. Li, D. Deng., Microchim Acta DOI 10.1007/s00604-011-0591-6
- [21] H.M. Heise, Polish J. Environmen. Stud., **15** (2003)37 - 42.
- [22] M. A. Zapata, Ma. I. Rosales Vázquez., J. Mater. Science., **16 (2)**, (2007) 4446 4451.
- [23] F. Yu, Y. Huang, A. J. Cole, V. C. Yang, Biomaterials., **30** (2009) 4716–4722.
- [24] L-M. Lua, L. Zhang, F.Li Qua, H-X Lu, X-B Zhang, Z-S. Wua, S-Y Huana, Q-A Wanga, G-L Shena, R-Q Yua. Biosen. Bioelectron., **25** (2009) 218–223
- [25] H. J. Park, J. T. McConnell, S. Boddohi, M. J. Kipper, P. A. Johnson. Colloids Surf B: Biointerfaces. **83** (2011) 198–203.
- [26] X. Chen, J. Zhu, Z. Chen, C. Xu, Y. Wang, C. Yao. Sens. Actuators B **159** (2011) 220– 228
- [27] B-W Lu, W-C Chen. J. Magnet. Magnet. Mater. **304** (2006) e400–e402.
- [28] L. Luo, Q. Li, Y. Xu, Y. Ding, X. Wang, D. Deng, Y. Xu., Sensor. Actuator B., **145** (2010) 293–298.
- [29] A. Safavi, N. Maleki, E. Farjamia, Biosen. Bioelectron., **24** (2009) 1655–1660.

- [30] C.V. Gopal Reddy, S.V. Manorama, V.J. Rao., *Sensor. Actuator. B*, **55** (1999) 90–95.
- [31] Y. Wang, Y. Xu, L. Luo, Y. Ding, X. Liu. *J. Electroanal. Chem.* **642** (2010) 35–40
- [32] S. Baea, S.W. Lee, *Appl. Phys. Lett.*, **89** (2006) 252503 – 10.
- [33] L. Yang, X. Ren, F. Tang, L. Zhang., *Biosensor. Bioelectronic.*, **25** (2009) 889–895.
- [34] J. Hendle, H. J. Hecht, H. M. Kalisz, R. D. Schmid, D. Schomburg, *J. Mol. Biol.* **223** (1992) 1167–169.
- [35] K. Kusai, I. Sekuzu, B. Hagihara, K. Okunuki, S. Yamauchi, M. Nakai., *Biochim. Biophys. Acta* **40** (1960) 555–557
- [36] J. Paskova, V. Munk, *Folia Microbial.* **8** (1963) 215
- [37] B. E. P. Swoboda, V. J. Massey. *Biol. Chem.* **240** (1965) 2209–2215
- [38] Z.H. Dai, J. Ni, X.H. Huang, G.F. Lu, J.C. Bao, *Bioelectrochemistry* **70** (2007) 250–256
- [39] T. Lu, X. Peng, H. Yang, L. Ji. *Enzyme and Microbial Technology.* **19** (1996) 339–342.
- [40] L. Cabrera, Tesis Doctoral “Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Magnetita. Generación de Materiales Híbridos”. (2008).
- [41] A.M. Castro Luna, A.E. Bolzán, M.F. De Mele, A.J. Arvia, *Pure Appl. Chem.*, **63** (1991) 1599–1608.
- [42] Y. Mu, D. Jia, Y. He, Y. Miao, H. L. Wu. *Biosens. Bioelectron.* **26** (2011) 2948–2952
- [43] D.S. Park, M-S Won, R. N. Goyal, Y.- B. Shima. *Sens. Actuators B* **174** (2012) 45– 50

CAPÍTULO 5.

CELDA DE COMBUTIBLE

Capítulo 5

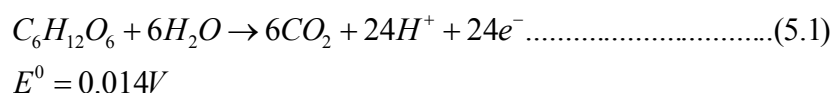
Celda de combustible

Además de la aplicación de estos materiales como biosensores para la detección de glucosa y metanol, nos propusimos el estudio de los mismos empleándolos en una celda de combustible. Nuestro mayor interés era el estudio en celdas de combustible miniaturizadas. Pero antes de abordar el mismo, se llevo a cabo el estudio de su viabilidad en una celda convencional. Para la celda de miniaturizada (celda de microfluídos), debido a la complejidad del sistema, decidimos comenzar el estudio con un material comercial como la maghemita.

5.1. Celda de combustible

Una celda de combustible es un dispositivo electroquímico que convierte energía química en energía eléctrica ^[1, 2]. Entre los principales retos al que se enfrentan hoy en día este tipo de dispositivos, se encuentra el alto costo de los catalizadores, además del envenenamiento de los mismos y el desgaste general de los materiales que conforman la celda, ocasionado principalmente por la corrosión ^[2]. Las celdas de biocombustible utilizan electrolitos neutros, con lo cual se evita la corrosión, y los catalizadores pueden ser microorganismos o enzimas ^[2, 3], representando un menor costo, además de presentar la ventaja de ser biocompatibles. Recientemente ha surgido el interés por el desarrollo de bioceldas que utilicen como combustible la glucosa y como agente oxidante el O₂ ^[2, 4-7]. Estas bioceldas convierten la energía de carbohidratos como el azúcar y los alcoholes,

directamente en energía eléctrica ^[8 - 11]. Los carbohidratos son oxidados en presencia de oxígeno, ^[2, 3, 11] de acuerdo con la siguiente reacción.



En esta reacción, la glucosa es electrooxidada a glucolactona en presencia de un catalizador natural como la glucosa oxidasa (GOx) ^[2, 8], mientras que el oxígeno se reduce a agua en el cátodo, en presencia de otro catalizador que puede ser otra enzima como la deshidrogenasa o lacasa ^[8].

La glucosa es una especie abundante en la naturaleza, que puede aportar una densidad de energía teórica de 4430 Wh/ kg, ligeramente menor a la que aporta el metanol (6100 Wh / kg). Sin embargo, el metanol es tóxico y sus vapores producen efectos fatales en el cuerpo humano ^[10]. Las bioceldas de combustible son una clase específica de celdas que utilizan como electrodos, enzimas o microorganismos soportados en materiales inorgánicos, como polímeros, nanotubos de carbono, cerámicas y en años recientes nanopartículas de metales preciosos ^[5,12, 13]. Las celdas biológicas de combustible son una buena alternativa como pequeños convertidores energéticos, sin embargo, aún es necesario trabajar en el diseño físico de los dispositivos, puesto que se requiere un separador entre ánodo y cátodo (membrana), así como compartimentos porosos para los electrodos que se envenenan con facilidad ^[14]. Al igual que en cualquier celda de combustible convencional, con la dificultad añadida en este caso de la inestabilidad de las enzimas, que se desnaturalizan fácilmente. Muchos trabajos en la actualidad tratan de explicar los

mecanismos de reacción en estos dispositivos ^[13-16], el desarrollo de nuevos biomateriales, ^[17, 18] la modificación e inmovilización enzimática ^[19 - 22] y la estructura y robustez de los ensambles enzima-electrodo.

Otra de las posibles vías de trabajo en este campo es la miniaturización de las bioceldas, con el fin de producir menos cantidad de energía para usos menos convencionales. En este sentido, se han abordado las celdas de microfluídos, que utilizan hidrógeno ^[2, 11], etanol ^[23] o ácido fórmico ^[24]. Estos dispositivos contienen los mismos elementos que una celda convencional, sin embargo, contienen un microcanal a través del cual fluyen los combustibles bajo régimen laminar (bajos números de Reynolds). El combustible y el oxidante fluyen en paralelo dentro de este microcanal, bien separados por una membrana que minimiza la fuerza óhmica y maximiza la densidad de corriente ^[2, 8], o bien sin membrana de separación, por lo tanto, estos dispositivos son operados sin una barrera física, como se ilustra en la figura 5.1.

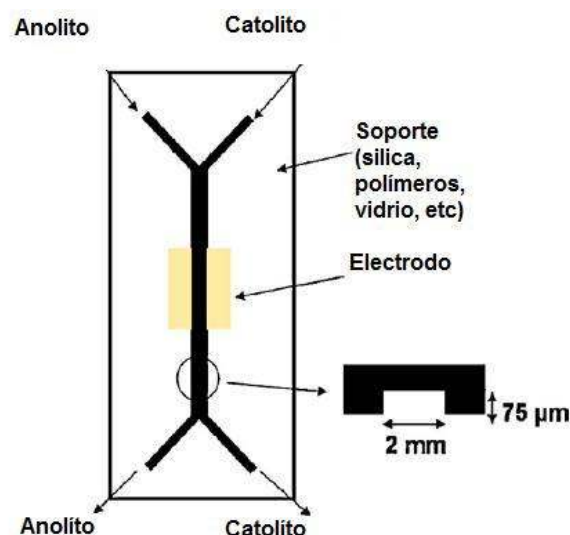


Figura 5.1.- Esquema de una biocelda de combustible de microfluídos. ^[2].

La reacción electroquímica tiene lugar en el ánodo y cátodo respectivamente, situados cada uno a los lados del canal. La estructura micro, le confiere muchas ventajas con respecto a la macroescala, por ejemplo, el uso de una menor cantidad de reactivos y menor espacio ^[11, 25].

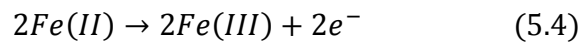
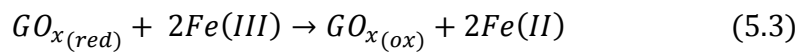
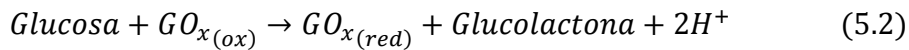
Tanto las celdas de combustible biológicas, como las celdas de microfluidos pueden usar diferentes materiales de electrodo, por ejemplo, metales nobles como catalizadores, como se muestra en la tabla 5.1.

Tabla 5.1. Trabajos reportados para sistemas de microfluidos con diferentes materiales como ánodo y cátodo

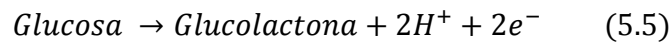
Ánodo / cátodo	Potencial de circuito abierto (V)	Potencia (mW cm ⁻²)	Referencia
Au-Ag-UPD/ Pt		0.025	[26]
Pt-NTC/ Pt-NTC		0.000768	[27]
Nanotubos de carbono-líquido iónico-enzima (ánodo/ cátodo)	0.2	0.002	[28]
Carbón vítreo + materia orgánica/ suspensión de lacassa versicolor	0.5	4.6 x 10 ⁻³	[29]
GOx-Hidroquinona- polipirrol sobre carbón/ Lacassa-ABTS- polipirrol sobre tubos de carbón poroso	0.41	0.27	[30]

Hasta ahora los materiales más estudiados como cátodos y/o ánodos son el Pt y el Au ^[2, 9, 10]. Pero debido a su alto costo, se están estudiando otras alternativas, como el Pd ^[24], el Fe³⁺ y/o Fe²⁺ ^[14] o el uso de enzimas como la Glucosa Oxidasa (GOx) en el ánodo y el uso de mediadores, que faciliten la transferencia electrónica entre los sitios biocatalíticos y la superficie de los electrodos para aumentar la oxidación de la glucosa ^[11].

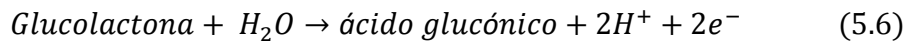
Entre los mediadores más comúnmente reportados ^[31, 32] están los basados en ferrocianuros que se unen a la enzima de manera covalente y facilitan la transferencia electrónica. En nuestro trabajo, se expone la idea de que los materiales férricos, como la maghemita, pueden catalizar la oxidación de la glucosa y al mismo tiempo actuar como mediador, para lo cual se propone el siguiente mecanismo de reacción.



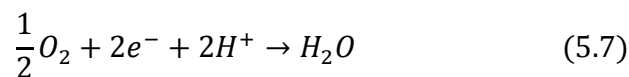
De manera que la reacción global en el ánodo es:



La glucolactona reacciona con el agua y produce ácido glucónico de acuerdo con la siguiente reacción:



Finalmente la reacción complementaria de reducción ocurre en el cátodo y se produce porque el O_2 funciona como aceptor de electrones:



Cuando se utiliza un mediador como el ferrocianuro, el hexacianoferrato o incluso el H_2O_2 estos actúan como aceptores. Las pilas de combustible que utilizan estos compuestos como mediadores muestran un rendimiento ligeramente mayor que los sistemas basados en la reducción directa de O_2 . La reducción de la fuerza iónica y el aumento de potencial,

disminuye la cinética de oxidación, sin embargo, uno de los principales inconvenientes del uso de mediadores, es que la superficie debe regenerarse continuamente.

La cinética de la oxidación de glucosa es muy sensible a la orientación cristalina del material de electrodo que se utilice ^[33], por lo tanto, en pequeños dispositivos como las celdas de microfluídos es importante seleccionar un material eficaz para la elaboración del ánodo y cátodo. En los últimos años el estudio de las propiedades de materiales magnéticos como la magnetita (Fe_3O_4) y/ o maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), muestra que estos materiales son una alternativa como materiales de electrodo, ya que además de su baja toxicidad, resultan un excelente soporte para enzimas o microorganismos, porque a pesar de no ser porosas, su tamaño permite inmovilizar alrededor de 100 mg de enzima por gramo de nanopartículas ^[5, 8, 10]. La glucosa oxidasa (GOx) es una de las enzimas más ampliamente utilizadas, por su capacidad para oxidar la glucosa y generar energía, sin embargo, es sensible al cambio de temperatura, pH, humedad, de manera que al enlazarse covalentemente a las nanopartículas magnéticas alcanza una estabilidad de hasta 25 días, bajo las mismas condiciones ^[33, 34]. El uso de óxidos de hierro como la maghemita, resulta mucho más económico que los materiales convencionales como el Au, Pt o carbón activado. Además de que las propiedades magnéticas de estas nanopartículas proporcionan una ventaja para la manipulación mediante la aplicación de un campo magnético externo.

A continuación se expone la metodología de trabajo y los resultados obtenidos en la preparación de los dispositivos de generación de energía, a partir de la combustión de

glucosa en presencia de oxígeno. Se trabajó en dos modelos diferentes, inicialmente en una celda convencional con cavidades separadas por una membrana y posteriormente en una celda de microfluídos. La aportación de este trabajo, consistió en el desarrollo de la metodología adecuada para la preparación del ánodo, utilizando nanopartículas magnéticas como la ferrita de níquel NiFe_2O_4 sintetizada electroquímicamente y la maghemita $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, comercial que se caracterizó para conocer sus propiedades básicas.

5.2. Celda de combustible convencional

5.2.1 Parte experimental

La figura 5.2 muestra un esquema de la celda utilizada. En el compartimento anódico se emplearon disoluciones de glucosa 10, 50, 100 y 500 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 y en el compartimento catódico se utilizó una solución de buffer de fosfatos, enriquecida con oxígeno. Para evaluar la eficiencia del dispositivo se utilizó como cátodo una barra de platino y como ánodo el electrodo modificado con las nanopartículas magnéticas.

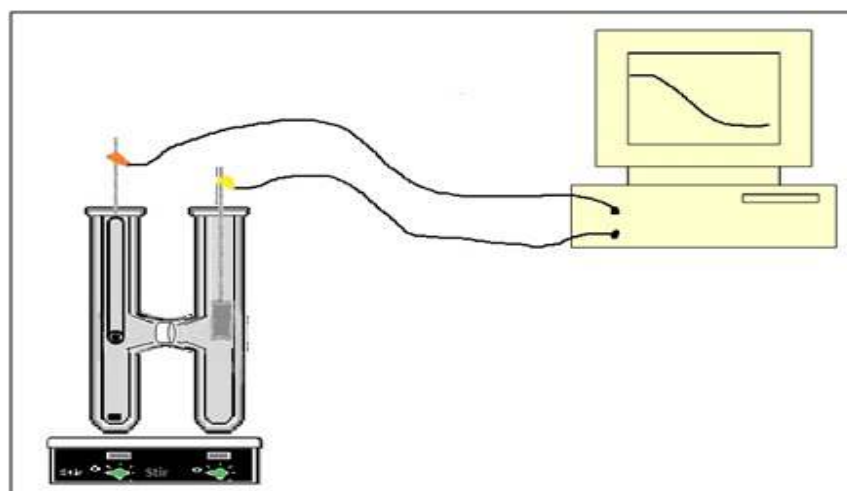


Figura 5.2. Esquema de operación de una celda de combustible separada por membrana.

Para la preparación del ánodo se utilizó una pasta de 30 % en peso de carbón vulcan, 30 % de ferrita de níquel y 40 % de aceite mineral como aglutinante. Dicha mezcla se homogeneizó en un mortero de ágata y finalmente se introdujo compactando perfectamente en un tubo hueco de teflón con un tornillo como contacto y un área de 0.07 cm^2 .

Para determinar el funcionamiento de la celda de combustible se obtuvieron curvas de polarización voltaje frente a la densidad de corriente. Se evaluó el cambio en el voltaje de celda, con el compuesto de las nanopartículas y la enzima, comparándolo con el dispositivo con un electrodo convencional. La caracterización electroquímica se llevó cabo en un potenciostato AUTOLAB 30.

5.3. Resultados

En la figura 5.3 se muestra además de la eficiencia de la pila, el efecto de la variación en la concentración de glucosa. Es posible observar que las curvas a 10 y 50 mM son muy similares, sin embargo, a concentraciones mayores, el potencial a circuito abierto y la potencia que aporta la pila decrece considerablemente. Este fenómeno se repitió a lo largo de este trabajo y se atribuye a que la superficie del electrodo se satura con moléculas de glucosa en la superficie, este hecho provoca que algunos de los productos intermedios en la reacción de glucosa permanezcan sobre la superficie, impidiendo que nuevas moléculas de glucosa sean adsorbidas, provocando que el proceso de oxidación se vuelva deficiente. Los valores de potencial a circuito abierto obtenidos oscilan entre 0.40

y 0.52 V, valores aceptables considerando que no se utiliza ningún metal precioso como ánodo ni ningún intermediario (Ver tabla 5.1). En base a estos resultados se tomó como condiciones de trabajo la solución 10 mM de glucosa en buffer de fosfatos.

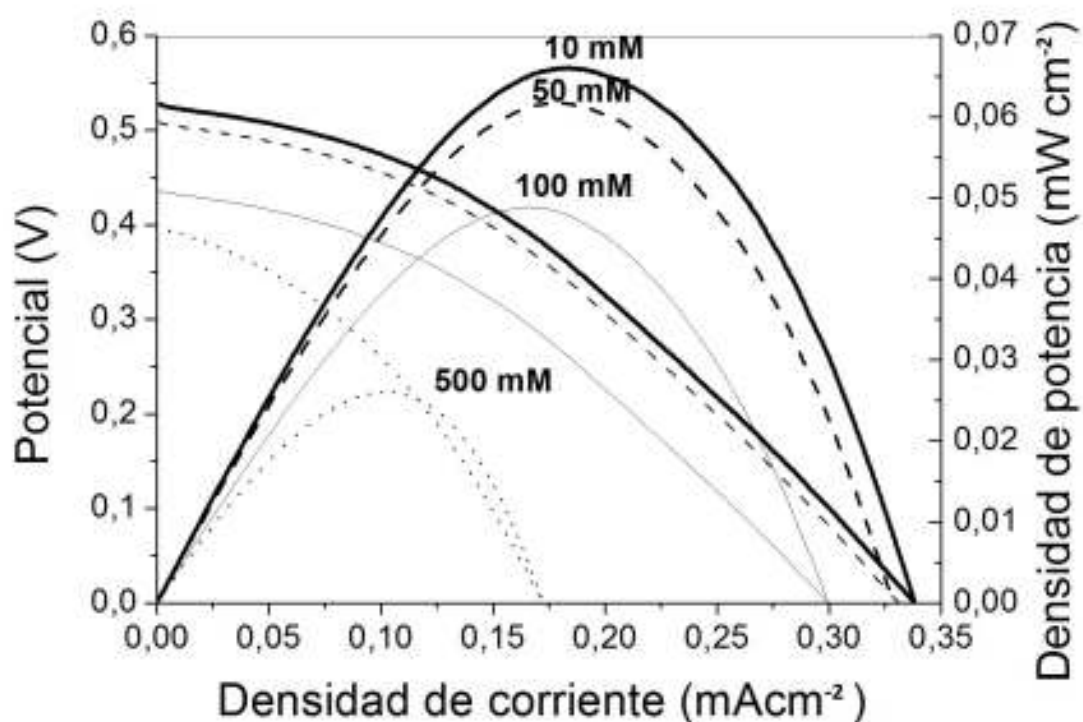


Figura 5.3. Curvas de descarga y polarización de la pila de glucosa empleando como ánodo un electrodo de pasta de carbono y ferrita de níquel 50 % en peso y como cátodo una placa de Pt. A diferentes concentraciones de glucosa.

Se realizó un análisis comparativo entre el electrodo de pasta con ferrita estudiado en el capítulo 4, un GCE modificado con ferrita de níquel y un electrodo de Au. Como podemos observar en la figura 5.4 las curvas de descarga no son muy diferentes. Los resultados obtenidos con el electrodo 50% ferrita/ vulcan, son ligeramente inferiores a los que se obtienen con el electrodo de oro que es un metal precioso, de alto costo y el más

comúnmente utilizado en este tipo de sistemas. Los valores de potencial de circuito abierto y de potencia máxima obtenidos en cada caso, se exponen en la tabla 5.2

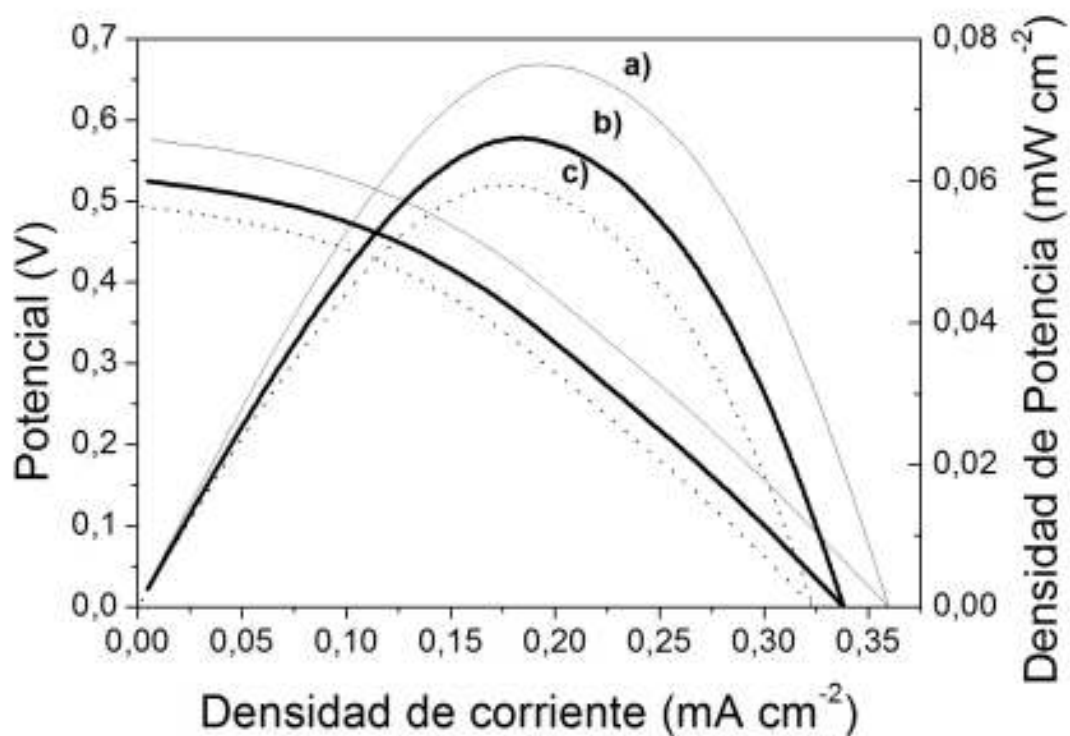


Figura 5.4. Curvas de descarga y polarización en glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4. empleando como ánodo electrodo a) Au, b) electrodo de pasta de carbono- ferrita de níquel 50 % en peso y c) electrodo de carbón vítreo modificado con 6 mg de ferrita de níquel

Tabla 5.2. Valores de potencial de circuito abierto y potencia máxima que aporta la pila empleando tres diferentes ánodos.

Ánodo	Potencial de circuito abierto (V)	Potencia (mW cm^{-2})
Oro	0.569	0.078
Electrodo de pasta carbón/ ferrita de níquel	0.518	0.062
Carbón vítreo modificado con ferrita de níquel	0.497	0.059

Como podemos ver los valores obtenidos son muy similares entre los tres electrodos, lo cual es muy alentador, puesto que emplear ferritas de níquel en lugar de materiales convencionales como el oro, disminuye el costo de operación. De la comparación entre los dos electrodos que contienen ferritas de níquel, el electrodo obtenido por deposición en tinta de las nanopartículas genera mayor voltaje a circuito abierto y mayor potencia, esto es debido a la mejor dispersión de estas sobre el electrodo que cuando están siendo utilizadas en un composite de pasta de carbono. Otras ventajas de usar este sistema es el requerimiento de menor cantidad de material y de la realización de mayor número de experimentos sin renovación de la superficie.

5.4 Celda de microfluídos

El segundo tipo de celda que se estudió en este trabajo, fue la celda de microfluídos. Al miniaturizar un dispositivo, se presentan fenómenos diferentes a los que aparecen a gran escala. Dadas las características de un dispositivo tan pequeño como una microcelda de combustible, se trabajó con la maghemita, que es la forma completamente

oxidada de la magnetita, y uno de los compuestos más estudiados para diferentes aplicaciones, por su estabilidad, actividad catalítica y biocompatibilidad. Fue evaluada la actividad catalítica de la maghemita por si sola y en combinación con la enzima Glucosa Oxidasa (GOx) (Sigma- Aldrich ultra anhydrous 99, 5 %).

5.4.1 Parte experimental

Entre los principales problemas a los que nos enfrentamos por las características del sistema, uno de ellos era la forma de soportar el material anódico sobre el canal de la microcelda.

Se preparó una tinta catalítica con las nanopartículas, que fuera estable y con buena adherencia a la superficie. Esta tinta se soportó sobre la superficie de un electrodo de carbón vítreo modificado con dos capas. Tras probar con distintas proporciones de carbón vulcan y maghemita se observó que la mejor respuesta se obtenía cuando la primera capa era preparada en 10 μL de una tinta preparada con 3mg de carbón vulcan (XC- 72 20 %w E-TEK), 6 mg de maghemita (Nanotek) y 93 μL de alcohol isopropílico (J.T Baker) que se colocaron en ultrasonido durante 30 minutos para su dispersión, después se agregaron 7 μL de Nafion[®] (Sigma Aldrich) y se sonicó nuevamente durante 15 minutos. La mezcla se depositó sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo, perfectamente pulido y seco. Una vez seca la primera capa, se depositó una segunda, que consta de 3 μL de una solución de GOx, diluida en Nafion al 2% en buffer de fosfatos.

Para la preparación de los electrodos en la celda de microfluídos, el dispositivo tiene un canal de 4,5 cm de longitud, 0,3 cm de ancho y 0, 1 cm de profundidad, y un área de

trabajo de $0,45 \text{ cm}^2$. Como se observa en la figura 5.5. El catalizador se depositó mediante un estilógrafo por la técnica de spray, sobre las paredes del micro-canal, utilizando la tinta de maghemita y carbón vulcan, descrita anteriormente y en algunos casos la Glucosa Oxidasa (GOx). Las disoluciones consisten, en una disolución de glucosa en buffer de fosfatos, saturada con N_2 , en contacto con el ánodo y una solución de buffer de fosfatos saturada con O_2 (usando una torre de saturación) en contacto con el cátodo. El oxidante y el combustible entran en el micro-canal a una velocidad de flujo muy baja (régimen laminar, con lo que se evita su mezcla) aproximadamente a una relación O_2 : glucosa de 3:1, para favorecer la reacción de reducción, que es la que limita la reacción global.

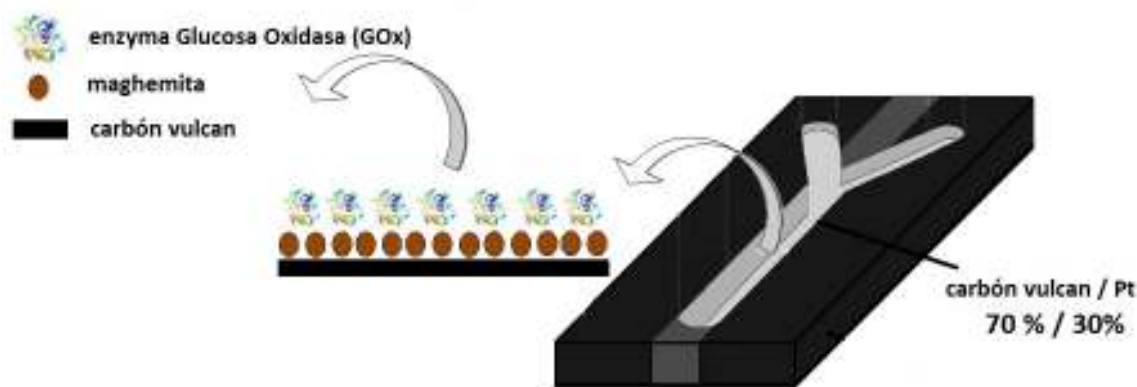


Figura 5.5. Esquema de la preparación de ánodo y cátodo en la celda de microfluidos.

El cátodo consiste en 3.10 mg cm^{-2} de una mezcla de nanopartículas de platino y carbón vulcan Pt/V XC-72 (30wt% de E-TEK comercial). Cuando se utilizó la enzima GOx, el ánodo fue preparado usando 2.50 mg cm^{-2} de carbón vulcan, 2.70 mg cm^{-2} de nanopartículas de maghemita y 3.20 mg cm^{-2} de glucosa oxidasa.

Se trabajó con diferentes concentraciones de glucosa 10, 50 y 100 mM. El flujo de la solución que pasa por el ánodo fue de 0.06 mL min^{-1} , mientras que el que pasa por el cátodo de 0.21 mL min^{-1} . El flujo de ambos líquidos, es regulado por dos bombas peristálticas (Masterflex de Cole- Palmer Modelo 77120-52 y modelo 77200-12). La caracterización electroquímica se realizó en un potenciostato AUTOLAB 30 a temperatura ambiente. En la figura 5.6 es posible observar el montaje experimental de las bombas y la microcelda.

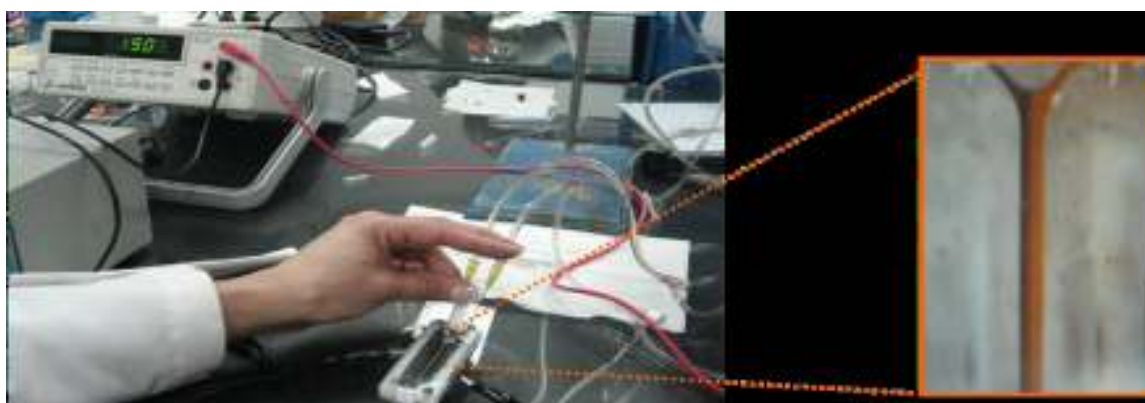


Figura 5. 6. Esquema del funcionamiento de la celda de microfluídos en régimen laminar.

5.4.2 Resultados celda de microfluídos

5.4.2.1 Caracterización del material del ánodo (maghemita comercial)

Previamente a mostrar los resultados obtenidos en la celda de microfluídos. Se muestran los resultados de la caracterización de las nanopartículas empleadas en este caso, que son nanopartículas de maghemita comercial (Nanoteck) y que se caracterizaron mediante difracción de rayos X (XRD) y espectroscopia electrónica de transmisión (TEM). Aunque las nanopartículas utilizadas fueron comerciales, no se indicaba ni su tamaño promedio ni la

presencia de impurezas. Los rayos X mostrados en la figura 5.7 indican la aparición de los picos de difracción a los valores 2θ correspondientes a la maghemita, sin la aparición de picos adicionales correspondientes a otros compuestos.

La maghemita tiene una estructura de espinela no estequiométrica con una tercera parte de los átomos de Fe (III), distribuidos 8 en la posición tetrahédrica y 16 en los sitios octaédricos. Esta estructura permite la reducción/oxidación del Fe (III) superficial según la ecuación 5.7, catalizando la oxidación de glucosa y dejando electrones que fluyen a través del circuito externo llegando al cátodo y produciéndose la reducción de oxígeno.

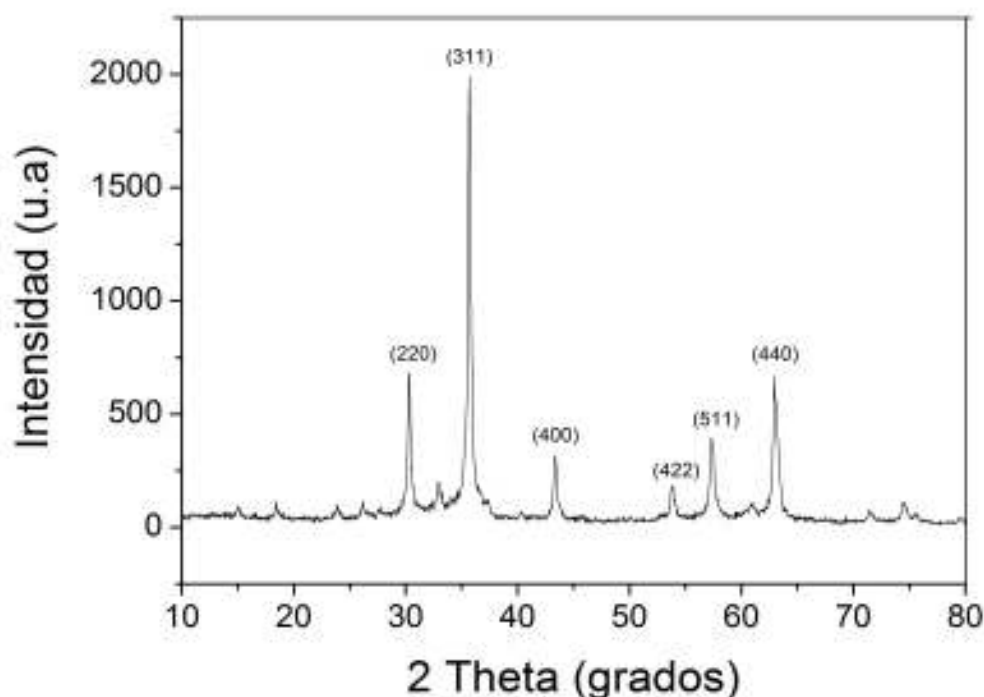


Figura 5.7. Difractograma de rayos X de la maghemita Nanotek

En la micrografía (figura 5.8) podemos observar que la muestra consiste en nanopartículas esféricas, ligeramente aglomeradas y con un tamaño promedio de 53 ± 2 nm de acuerdo con el histograma de la figura 5.9.

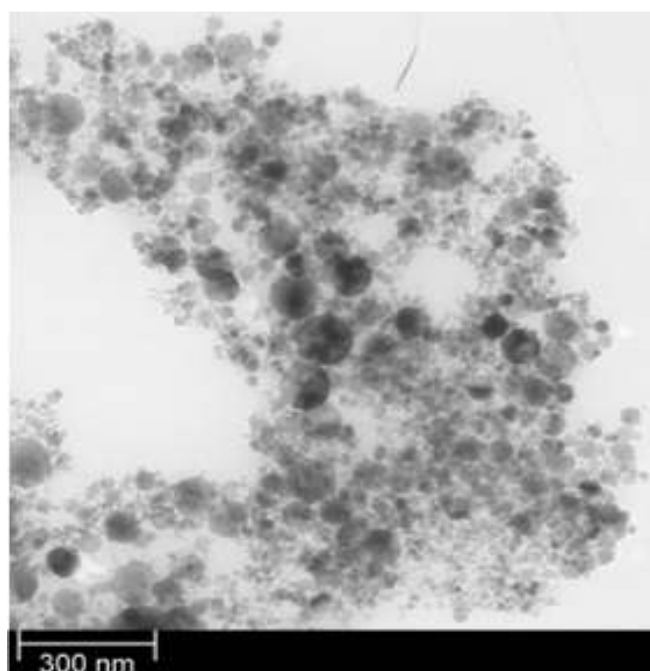


Figura 5.8. Micrografía electrónica de transmisión de las nanopartículas de maghemita Nanoteck

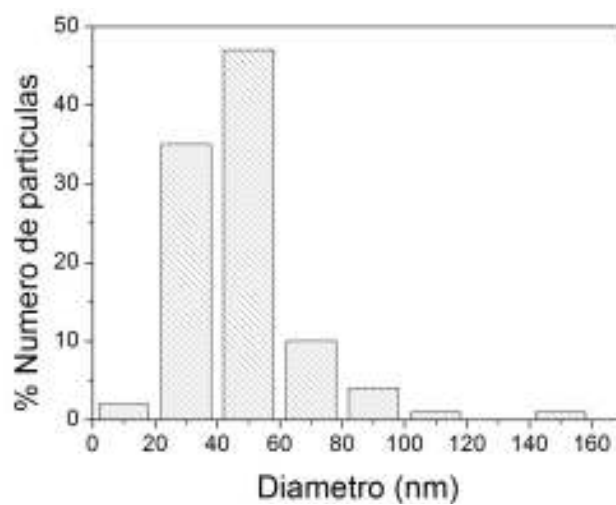
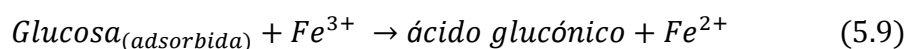
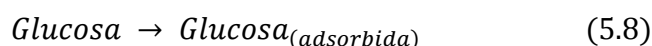


Figura 5.9 Histograma de la distribución de tamaños de las nanopartículas de maghemita Nanoteck

5.4.2.2 Comportamiento electroquímico de la maghemita en glucosa.

Para establecer las condiciones de trabajo en cuanto a la cantidad más efectiva de nanopartículas, se prepararon diferentes tintas catalíticas variando la cantidad de maghemita y se evaluó su respuesta voltamétrica. La figura 5.10 muestra los voltagramas de una solución de glucosa 10 mM utilizando dos electrodos con diferente contenido de maghemita. La línea a) 1 mg de maghemita/ 3 mg de carbón vulcan, mientras que la línea b) 6 mg de nanopartículas de maghemita mezcladas con 3 mg de carbón vulcan.

El proceso de oxidación de glucosa se produce en dos etapas. La primera etapa de adsorción y la segunda la oxidación de la misma. Cuando la cantidad de maghemita es baja no se observa ningún pico reseñable, esto es debido a que la glucosa no se adsorbe sobre el carbón y la cantidad de nanopartículas es tan baja que dicha corriente apenas es observable. Al incrementar la cantidad de maghemita es posible observar la adsorción (0.6 V) y finalmente la oxidación de glucosa alrededor de 1 V. El pico de reducción que aparece a 0.47 V puede ser debido a la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} formado simultáneamente a la oxidación de glucosa, de acuerdo al siguiente mecanismo.



El pico que se forma a 0.07 V puede deberse a la reducción de especies formadas durante el proceso de oxidación de la glucosa, ya que no es identificable con la reducción del Fe o Ni.

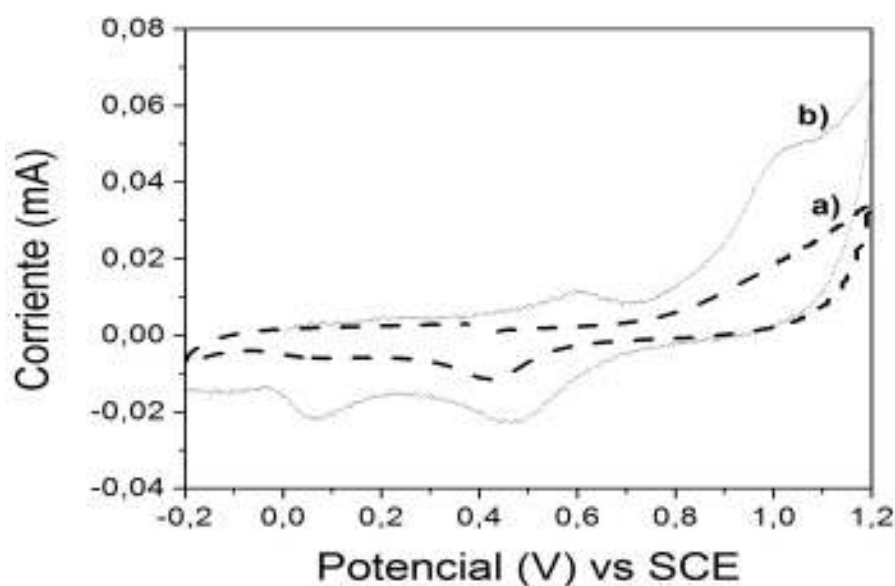


Figura 5.10 Voltametría cíclica que demuestra el efecto de la cantidad de maghemita en la tinta catalítica para el proceso de oxidación de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s^{-1} . a) 1 mg y b) 6 mg de maghemita.

En general, los procesos electrocatalíticos en este tipo de sistemas requieren el uso de un mediador como puede ser el ferroceno o algunos derivados o bien, la enzima glucosa oxidasa que favorece la transferencia basada en mecanismos difusionales, disminuyendo la distancia entre las especies oxidadas y los electrones disponibles en la superficie del electrodo. Para comprobar este efecto, se estudió el comportamiento de tres electrodos mediante voltametría cíclica, a) electrodo de carbón vítreo, b) el electrodo de carbón vítreo modificado con una solución de GOx y c) el electrodo de carbón vítreo modificado con maghemita. Se empleó una solución 10 mM de glucosa a 20 mV s^{-1} . La figura 5.11 muestra las curvas voltamétricas para estos tres electrodos. El electrodo modificado con GOx (línea b) reduce el potencial de oxidación con respecto al electrodo c) de 1 a 0.6 V, pero se reduce también la corriente máxima, por lo tanto es posible pensar en combinar

la GOx con la maghemita y aprovechar las bondades de cada uno de ellos en la oxidación de glucosa. La línea a) corresponde al electrodo de carbón vítreo, que como se observa no presenta ninguna respuesta.

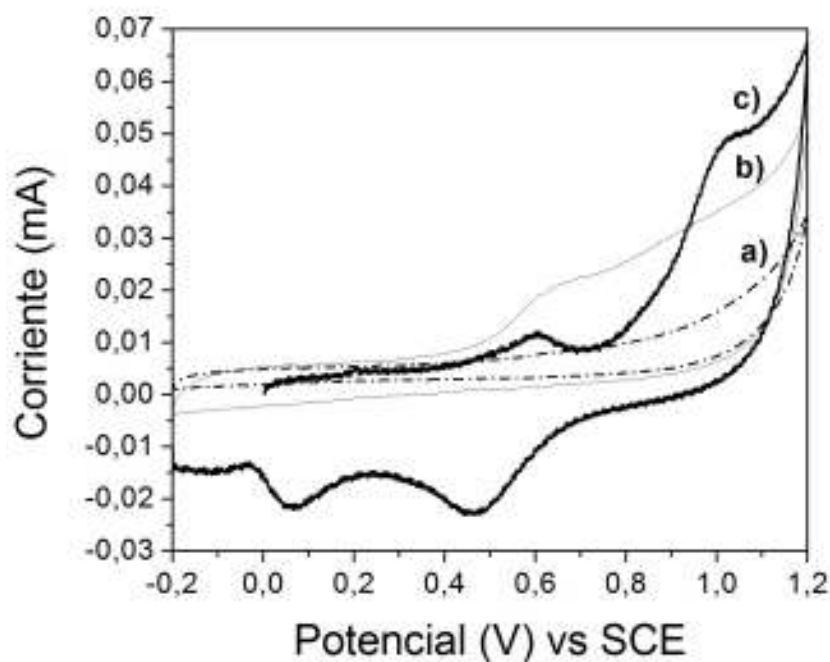
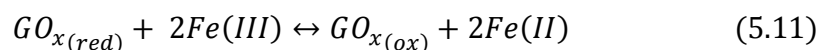
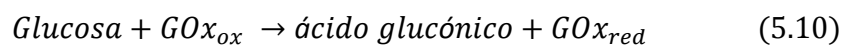


Figura 5.11. Voltagrama de la oxidación de Glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 20 mV s^{-1} .

Electrodo a) electrodo de carbón vítreo; b) GOx sobre carbón vítreo c) maghemita sobre carbón vítreo

Los picos que aparecen entre 0.1 y 0.6 V de la figura 5.12 corresponden al par redox Fe(III)/Fe(II) , que reacciona con la GOx de acuerdo con el siguiente mecanismo:



El voltaje del pico a 0.47 V depende del óxido u oxihidróxido de hierro presente, observándose siempre en las fases más reactivas como los γ -óxidos y γ -oxihidróxidos y solo en algunas cuando las fases α - (hematita y goetita) están presentes ^[35, 36].

Una vez evaluado el efecto de cada material de manera individual y basándonos en la bibliografía existente sobre sistemas parecidos donde se utiliza de manera conjunta un soporte y la GOx ^[3, 4, 8, 11, 37, 38], se modificó un electrodo con una capa de maghemita y una segunda capa de GOx. En el voltograma de la figura 5.12 es posible observar el efecto sinérgico que resulta al mezclar la maghemita y la GOx. En el voltograma b, se observa que el potencial de oxidación se desplaza hacia valores más positivos y se alcanza una corriente máxima de pico a este potencial de 0.035 mA. Los valores de corriente encontrados para la oxidación de glucosa son comparables a la de otros electrodos como el Au ^[30]. El voltograma presenta una forma totalmente diferente al que muestra los electrodos que contienen solo GOx o maghemita. Aparece un pico de reoxidación a potenciales más bajos en torno a 0.3 V, este pico puede ser debido a oxidación de glucosa sobre la superficie libre de átomos de Fe^{3+} que no han sido reducidos completamente a Fe^{2+} , produciéndose sobre estos nuevamente la oxidación de glucosa.

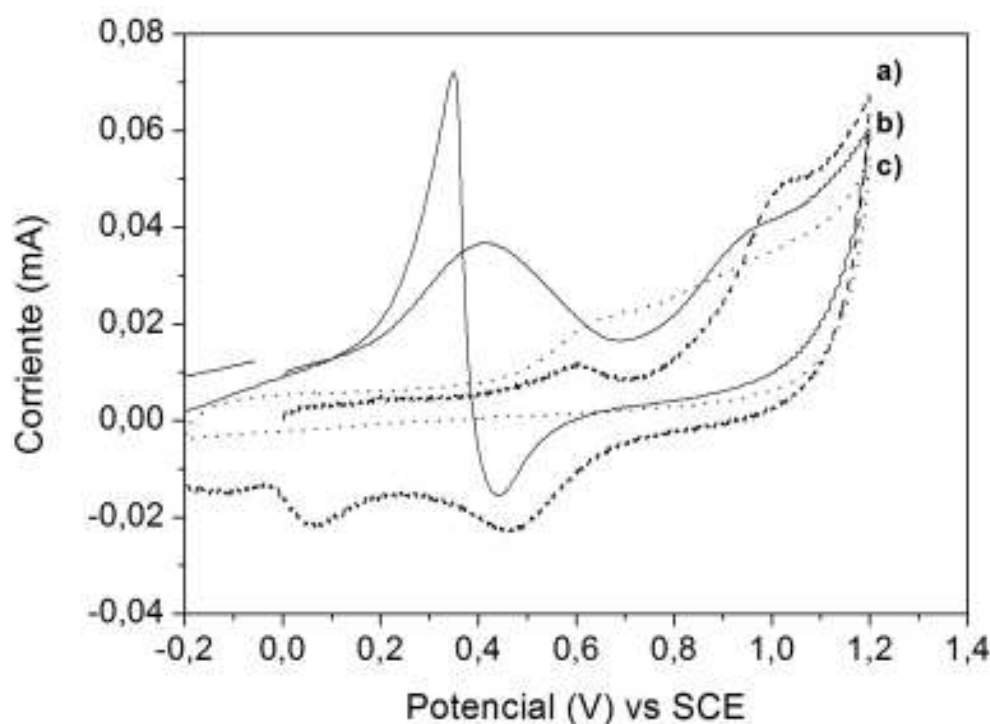


Figura 5.12. Voltamogramas cíclicos del electrodo de carbón vítreo modificado a) GCE/maghemita, b) GCE/maghemita/GOx, c) GCE/GOx, glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} .

Las ventajas de utilizar un electrodo que contiene maghemita y GOx es que se potencian los efectos de ambos materiales, por un lado la capacidad catalítica de la maghemita frente a la oxidación de la glucosa debida a un aumento de la transferencia de carga y por otro la selectividad que presenta la enzima GOx frente a la oxidación de la glucosa. En el sistema que aquí se propone, el Fe^{3+} presente en la estructura y más concretamente en la superficie de las nanopartículas de maghemita actúa como mediador al poder reducirse a Fe^{2+} , esto es una gran ventaja al no tener que utilizar mediadores externos que deben ser

regenerados continuamente, en este caso la regeneración se produce sobre la superficie de las nanopartículas por reacciones de oxido-reducción internas.

Una vez comprobado el efecto catalítico de los electrodos de maghemita/ GOx se prepararon las tintas y se montó la celda de microfluídos según se indicó en la parte experimental 5.4.1. La figura 5.13 muestra las curvas de descarga para tres ánodos diferentes: a) nanopartículas de maghemita, b) GOx y c) Maghemita / GOx. Es evidente que los mejores resultados de potencial a circuito abierto y densidad de potencia se obtienen con el electrodo preparado con las nanopartículas de maghemita y GOx, sin utilizar ningún mediador como comúnmente requieren estos sistemas. Los valores se presentan en la tabla 5.3.

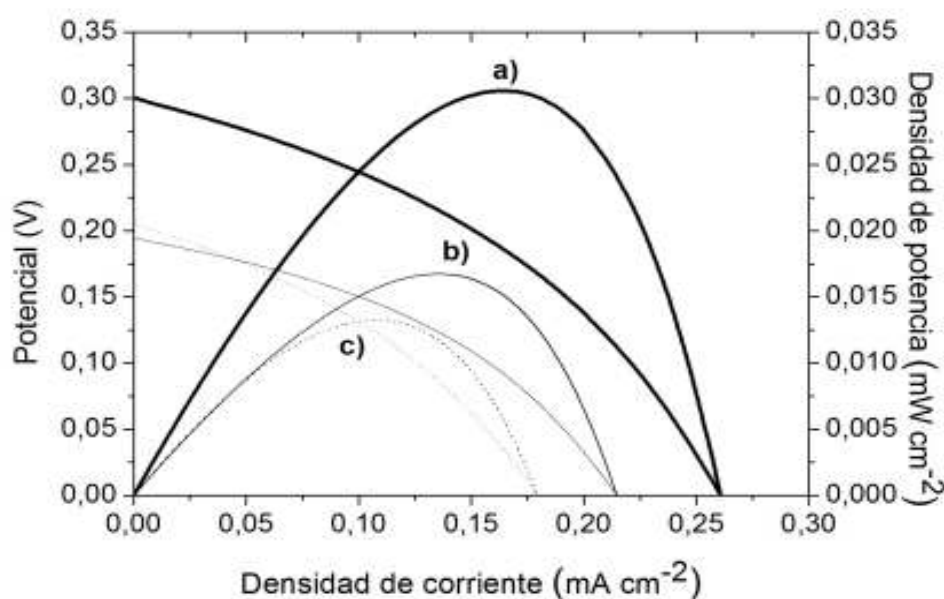


Figura 5.13. Curva de polarización y densidad de potencia de glucosa 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 utilizando como ánodo a) maghemita/GOx; b) GOx y c) nanopartículas de maghemita; cátodo, Pt nanopartículas.

Tabla 5.3 valores obtenidos por la celda de microfluidos empleando diferentes electrodos

Electrodo	Potencial a circuito abierto (V)	Densidad de corriente (mA cm ⁻²)	Potencia (mW cm ⁻²)
magemita+GOx	0.30	0.263	0.030
GOx	0.19	0.216	0.016
NPS de maghemita	0.21	0.175	0.013

Se analizaron también las curvas de polarización y descarga de la celda de microfluidos para distintas concentraciones de glucosa cuyos resultados se exponen en la figura 5.14. El potencial a circuito abierto y la máxima densidad de potencia se obtienen como cabia esperar para una concentración de glucosa de 10 mM.

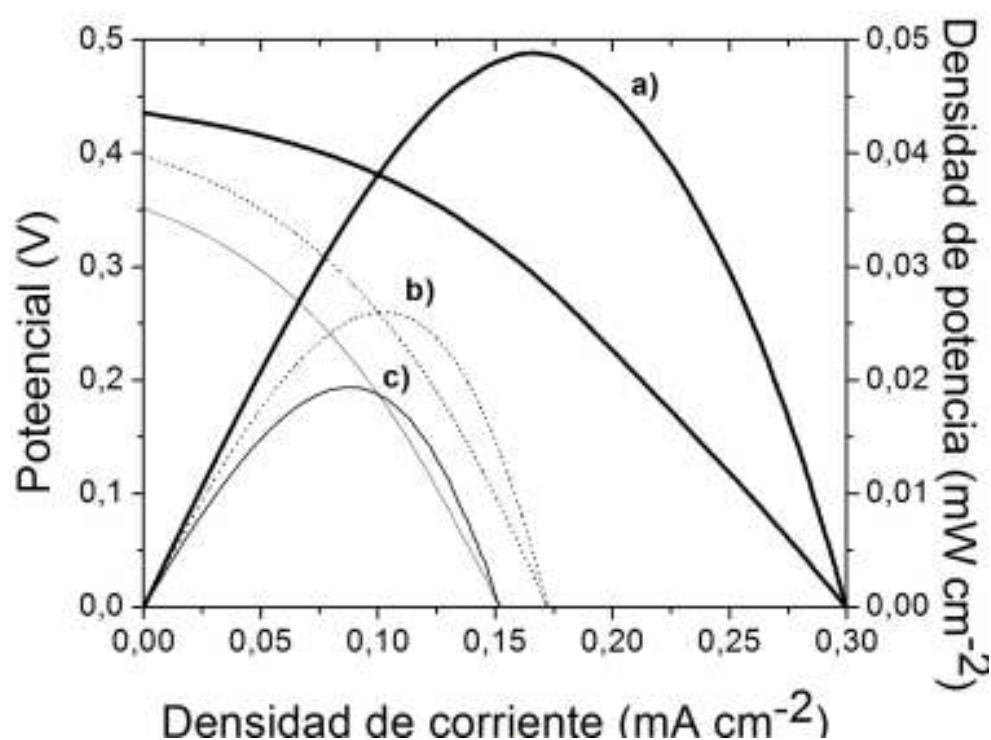


Figura 5.14. Curva de polarización y densidad de potencia en buffer de fosfato pH 7.4 que contiene a) 10 mM; b) 50 mM y c) 100 mM de glucosa, en una celda de microfluidos con: anodo, maghemita + GOx y cátodo, NPs de Pt.

Por último se comprobó la estabilidad de este sistema con el tiempo. La figura 5.15 muestra las curvas para a) un electrodo recién preparado, b) después de una hora y c) después de dos días de almacenamiento a 2 °C. Se observa en la figura que después de una hora, la pila muestra una ligera disminución de sus parámetros característicos, mientras que después de dos días de preparados los electrodos, se produce una reducción de poco menos de 50 % de su eficiencia.

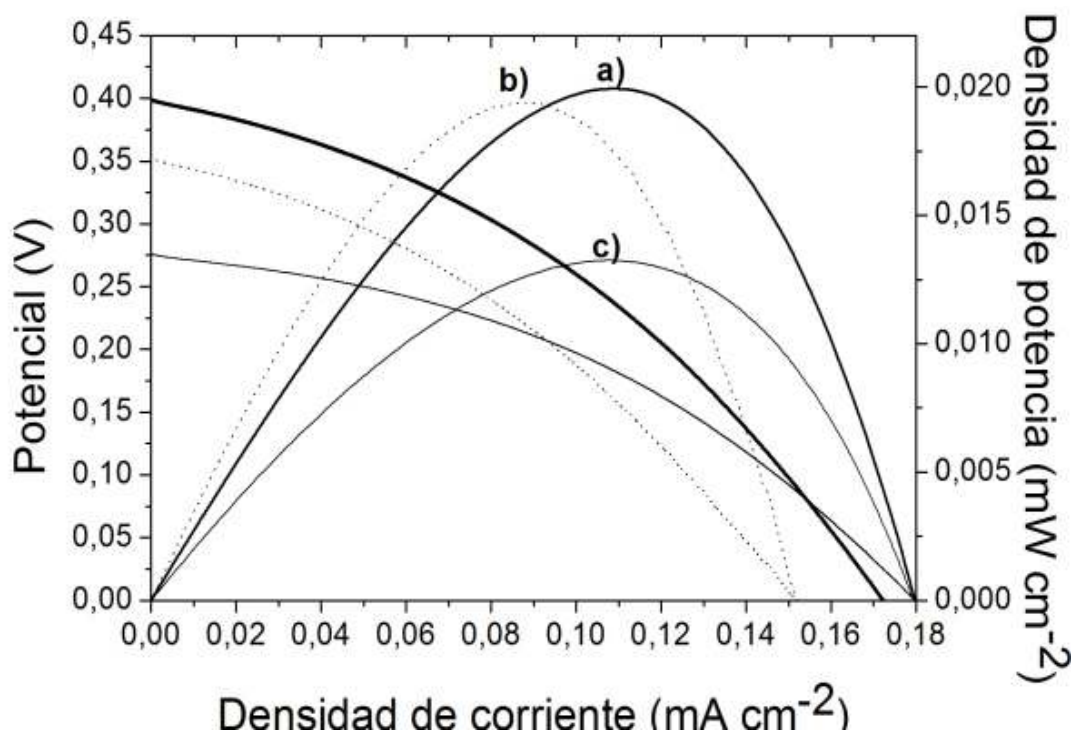


Figure 5.15. Estabilidad con respecto al tiempo de la celda de microfluídos con ánodo, maghemita + GOx y cátodo de platino. Una solución de glucose 10 mM en buffer de fosfatos; y una solución enriquecida de O₂ en operación continua. a) electrodo recién preparado; b) electrodo después de una hora y c) después de 2 días de preparado el electrodo.

Para poder comparar la eficiencia de la micropila diseñada, la tabla 5.4 muestra los valores de los pocos dispositivos reportados en la bibliografía de características similares. En pocos de los casos mostrados, los parámetros son mayores que los que se han obtenido en nuestro sistema. Un sistema como el de Katz y col. ^[18] genera una potencia de 4.5 μW , es decir, ocho veces por debajo del valor obtenido en este trabajo. Sin embargo, aunque los resultados son muy prometedores, algunos de los parámetros pueden ser optimizados con el fin de obtener mayores rendimientos, como por ejemplo la sustitución del cátodo empleado que contiene nanopartículas de platino por un material de similares características que el empleado en el ánodo y así construir una biomicrocelda, con sus dos componentes (ánodo y cátodo) biológicos.

Tabla 5.4. Valores de densidad de potencia para microceldas de combustibles reportadas en la literatura.

Ánodo	Cátodo	Potencial de circuito abierto (V)	Densidad de corriente (mAcm^{-2})	Potencia/densidad de potencia (μW)	Referencia
Monocapa de oro – GOx combustible: glucosa	Citocromo-citocromo oxidase reconstituido Oxidante: O ₂	0.13	0.20	4	[39]
combustible: glucosa	Oxidante: O ₂	0.12	0.55	4.3	[40]
Os derivados poliméricos- mediador combustible: glucosa	Os derivados poliméricos- mediadores Oxidante: O ₂	0.60		4.8	[41]
Enzimas empaquetadas (GDH) y mediador sobre fibra de carbón combustible:	PDMS- Pt Oxidante: O ₂	0.80	0.011	100 mW con un volume de 80 cm ³ Con multi- acumulados de 1.45 \pm 0.24 mW	[42]

glucosa				cm ⁻² at 0.3 V.	
(GOx) Inmovilizada sobre silicon poroso/ sustratos SWNT combustible: glucosa	Laccase (Lac) Inmovilizada sobre silicon poroso/ sustratos de SWNT Oxidante: Aire/O ₂		0.030	1.38 μW cm ⁻² bajando a 0.3 μW cm ⁻² en 24 h fue obtenido en una solución 4 mM de glucosa	[43]

5.5 Conclusiones parciales

- La ferrita de níquel es un catalizador prometedor para la oxidación de glucosa a pH neutro, por lo que resulta un buen candidato para emplearse como ánodo en una celda de combustible.
- Las nanopartículas de maghemita pueden sustituir a materiales como Au y Pt, comúnmente utilizados como ánodos en una celda de microfluídos, lo cual disminuye el costo de operación.
- La maghemita en este trabajo actúa como soporte para la enzima GOx y como mediador por la presencia del Fe⁺³ en su estructura, favoreciendo el proceso de oxidación de la glucosa en una celda de microfluídos.
- La inmovilización de la enzima GOx por la técnica de adsorción sobre la superficie de las nanopartículas, resulta buena, sin embargo, es conveniente intentar otras metodologías de inmovilización (ver anexo).
- El ánodo de maghemita/GOx en la celda de microfluídos es estable durante el primer día de operación del sistema. Los parámetros como potencia de la celda y potencial de circuito abierto sufren una reducción del 50 %, a partir del tercer día.

5. 6 Referencias del capítulo

- [1] B. G. Pollet, International J. Hydrogen. **35** (2010) 11986- 12004.
- [2] A. K. Shuka, P. Suresh, S. Berchmans, A. Rajendran., Current Science, **87** (2004) 455 – 468.
- [3] S. A. Ansari, Q. Husain. Biotech. Advan. **30** (2012) 512–523.
- [4] J. Kim, H. Jia, P. Wang., Biotech. Advan., **24** (2006) 296– 308.
- [5] Po-Chin Nien, Jen-Yuan Wang, Po-Yen Chen, Lin-Chi Chen, Kuo-Chuan Ho. Bioresource Technology **101** (2010) 5480–5486
- [6] L. Hussein, Y.J. Feng, N. Alonso-Vante, G. Urbana, M. Kruger. Electrochim. Acta **56** (2011) 7659– 7665
- [7] C. E. La Rotta H, G. P.M.K. Ciniciato, E. R. González. Enzyme Microb. Technol. **48** (2011) 487–497
- [8] E. H. Yu, K. Scott., Energies., **3**, (2010) 23-42.
- [9] S. C. Barton, P. Atanassov., Prepr. Pap.-Am. Chem. Soc., Div. Fuel Chem. **49(2)** (2004) 476 – 477.
- [10] M. Guerra-Balcázar, D. Morales-Acosta, F. Castañeda, J. Ledesma-García, L.G. Arriaga., Electrochem. Commun. **12** (2010) 864–867.
- [11] A. Zebda, L. Renaud, M. Cretin, C. Innocent, F. Pichot, R. Ferrigno, S. Tingry., J. Power Sources, **193** (2009) 602–606
- [12] M.C. Potter, Proc. R Soc. B, Biol. Sci. **84** (1912) 260–276.
- [13] A.T. Yahiro, S.M. Lee, D.O. Kimble, BBA – Biophys. **88** (1964) 375–383.

- [14] F. Colmati, S. A. Yoshiok, V. L. V. B. Silva, H. Varela, E. R. Gonzalez. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2** (2007) 195 – 202.
- [15] J.W. Gallaway, B. Calabrese, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 8527–8536
- [16] W. Vielstich, H. Yokokawa, H. A. Gasteiger. *Handbook of Fuel Cells – Fundamentals, Technology and Applications.*, John Wiley & Sons, 2009 Volume 5
- [17] K. Nishizawa, T. Konno, M. Takai, K. Ishihara, *Biomacromolecules.*, **9** (2008) 403–407.
- [18] E. Katz, O. Lioubashevsky, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 15520–15532.
- [19] Z. Zhu, C. Momeu, M. Zakhartsev, U. Schwaneberg, *Biosens. Bioelectron.* **21** (2006) 2046–2051.
- [20] E.H. Yu, K. Sundmacher, *Process Saf. Environ. Prot.* **85** (2007) 489–493.
- [21] J.J. Gooding, F. Mearns, W.R. Yang, J.Q. Liu, *Electroanalysis* **15** (2003) 81–96.
- [22] H. Kudo, T. Yagi, M. Chu, H. Saito, N. Morimoto, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, K. Mitsubayashi, *Anal. Bioanal. Chem.* **391** (2008) 1269–1274.
- [23] A. Ramanavicius, A. Kausaite, A. Ramanaviciene., *Biosensor. Bioelectronic.* **24** (2008) 761–766.
- [24] D. Morales-Acosta, H. Rodríguez G., Luis A. Godínez, L.G. Arriaga., *J. Power Sources* **195** (2010) 1862–1865.
- [25] A. Zebda, L. Renaud, M. Cretin, F. Pichot, C. Innocent, R. Ferrigno, S. Tingry., *Electrochem. Commun.*, **11** (2009) 592–595.
- [26] C. Jin, I. Taniguchi, *Mater. Lett.*, **61** (2007) 2365 - 2371.

- [27] J. Ryu, H.-S. Kimb, H. Thomas, D. Lashmore, *Biosens. Bioelectron.* **25** (2010) 1603 - 1605.
- [28] Y. Liu, S. Dong, *Biosens. Bioelectron.* **23** (2007) 593 - 597.
- [29] Y. Chen, W. Schuhmann, A.W. Hassel, *Electrochem. Commun.* **11** (2009) 2036 - 2040.
- [30] D. Scott, B.Y. Liaw, *Energy Environ. Sci.* **2** (2009) 965 - 969.
- [31] Y. Degani, A. Heller, *J. Phys. Chem.* **91** (1987) 1285–1289.
- [32] Y. Degani, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 2615–2620.
- [33] L. Betancor, M. Fuentes, G. Dellamora-Ortiz, F. López-Gallego, A. Hidalgo, N. Alonso-Morales, C. Mateo, José M. Guisan, R. Fernández-Lafuente, *J. Molec. Catalys. B: Enzymatic* **32** (2005) 97–101
- [34] T. Lu, X. Peng, H. Yang, L. Ji. *Enzyme and Microbial Technology* **19** (1996) 339-342,
- [35] G. Cepriá, A. Usón, J. Pérez-Arantegui, J.R. Castillo. *Anal. Chim. Acta.* **477** (2003) 157–168.
- [36] P. Encinas, L. Lorenzo, M.L. Tascón, M.D. Vázquez, P. Sánchez-Batanero. *J. Electroanal. Chem.* **371**, (1994) 161–166
- [37] B. R. Pieters, G. Bardeletti. *Enzyme Microb. Technol.* **14** (1992) 361–370.
- [38] J. Xie, X. Zhang, H. Wang, H. Zheng, Y. Huang. *Trends Anal. Chem.* **39** (2012) 114 – 129.
- [39] E. Katz, I. Willner, A.B. Kotlyar, *J. Electroanal. Chem.* **479** (1999) 64–68.
- [40] E. Katz, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 6803–6813.
- [41] N. Mano, F. Mao, A.A. Heller, *Chembiochemistry.* **5** (2004) 1703–1705.

[42] H. Sakai, T. Nakagawa, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Ikeda, S. Tsujimura, K. Kano, *Energy Environ. Sci.* **2** (2009) 133–138.

[43] S.C. Wang, F. Yang, M. Silva, A. Zarow, Y.B. Wang, Z. Iqbal, *Electrochem. Commun.* **11** (2009) 34–37

CONCLUSIONES

Conclusiones

Aunque ya se han indicado las conclusiones parciales en cada capítulo, en esta sección se compilan todas las conclusiones derivadas de este trabajo

- Respecto a la ruta de síntesis, las nanopartículas con las mejores propiedades morfológicas, estructurales, térmicas, magnéticas y coloidales fueron las obtenidas por la vía electroquímica.
- La sonoelectroquímica puede resultar una metodología alternativa para la obtención de ferrita de níquel.
- La ferrita de níquel electrosintetizada tiene gran actividad catalítica en los procesos de oxidación de glucosa y metanol.
- Los sensores amperométricos de glucosa base ferrita de níquel resultan prometedores en cuanto a valores de límites de detección, sensibilidad y selectividad comparados a los que existen en la literatura.
- Las nanopartículas de maghemita pueden sustituir a materiales como Au y Pt, comúnmente utilizados como ánodos en una celda de microfluídos, lo cual disminuye el costo de operación.
- La maghemita en este trabajo actúa como soporte para la enzima GOx y como mediador por la presencia del Fe^{+3} en su estructura, favoreciendo el proceso de oxidación de la glucosa en una celda de microfluídos.
- La ferrita de níquel y maghemita son compuestos que permiten inmovilizar una gran variedad de enzimas, principalmente la glucosa oxidasa (GOx).

ANEXO

Ferrita de Níquel como material de soporte enzimático

En este anexo se presentan los resultados preliminares de diferentes metodologías para soportar diferentes enzimas sobre electrodos que contienen en su matriz ferritas de níquel.

1. INTRODUCCIÓN

Recientemente, áreas de biofísica y bioquímica han centrado su atención en el estudio de la transferencia electrónica entre un sistema enzimático y la superficie convencional de un electrodo, para favorecer los procesos de catálisis enzimática, que a su vez permiten aumentar la eficiencia en la conversión de energía de las biopilas de combustible y aumentar la sensibilidad de los biosensores. La inmovilización enzimática es un factor clave para lograr una buena estabilidad, alta. Sin embargo, es difícil lograr la transferencia directa de electrones entre la enzima y la superficie del electrodo, por lo que se han buscado ensambles que faciliten esta transferencia electrónica ^[1]. Cada método de inmovilización presenta ventajas y desventajas. La selección de la metodología más adecuada dependerá de la naturaleza de la enzima y de las características del material sobre el que se va a depositar. El uso de nanomateriales como: polímeros conductores, nanohilos, nanotubos de carbono, nanopartículas entre otros, para el diseño de dispositivos bioselectivos, constituye una alternativa interesante, que se ha ido desarrollando recientemente, debido a las propiedades mecánicas, eléctricas y

estructurales ^[2]. La excelente conductividad de las nanopartículas metálicas, promueve la transferencia electrónica entre el centro redox de las proteínas y la superficie del electrodo ^[3, 4]. Las biomoléculas se unen por adsorción covalente a la gran área superficial que poseen las nanopartículas. Entre los diferentes tipos de nanopartículas que se emplean, están las nanopartículas magnéticas, que además se sintetizan con facilidad y permiten inmovilizar 100 mg de enzima por gramo de nanopartículas ^[5, 6]. En algunos casos, la inserción de metales como el Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} y Co^{2+} mejoran la selectividad y facilitan la interacción con los grupos presentes en las proteínas y/o enzimas ^[6]. En la tabla A1 se muestran algunos de los trabajos donde se emplean nanopartículas magnéticas para la inmovilización de enzimas.

Tabla A1. Enzimas inmovilizadas sobre nanopartículas magnéticas

Enzima	Nanopartícula utilizada	Aplicaciones	Referencia
Colesterol oxidasa	Fe_3O_4	Análisis del colesterol total en serum	[7]
Lifasa	Fe_3O_4	Hidrólisis de pNPP	[8]
Laccasa	nanopartículas magnéticas- quitosan	Biorremediación de contaminantes del ambiente	[9]
Keratinasa	Fe_3O_4	Síntesis de queratina	[10]
Glucosa oxidasa (GOx)	Fe_3O_4	Inmovilización y estabilidad	[11]

Glucosa oxidasa (GOx)	CoFe ₂ O ₄ /SiO ₂	Transportadores	[12]
Glucosa oxidasa (GOx)	Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	Antecedentes para el desarrollo de un biosensor óptico de glucosa	[13]
Peroxidasa (HRP) - GOx- anticuerpos	Au- (azul de Prusia)PB-Fe ₃ O ₄	Inmunosensor	[14]

La inmovilización enzimática sobre nanopartículas magnéticas es un área en continuo desarrollo para la generación de biosensores enzimáticos, esta tecnología puede extrapolarse a la generación del ánodo y cátodo en otros dispositivos como son las bioceldas de combustible. Hasta ahora las celdas enzimáticas más comúnmente estudiadas son aquellas en las que una enzima modelo como la Glucosa Oxidasa (GOx) es inmovilizada sobre un electrodo de Au o Pt ^[15, 16]. Puesto que los resultados en el área de biosensores son favorables empleando magnetita y debido a que la ferrita de níquel pertenece a la misma familia de nanopartículas magnéticas, con propiedades similares a las de la magnetita y con la actividad catalítica del Ni, y que además resulta ser afín con los grupos aminos que forman las cadenas de varias enzimas ^[17], hemos realizado un estudio inicial con diversas metodologías para inmovilizar enzimas sobre ferrita de níquel que ha sido sintetizada electroquímicamente para después depositar este ensamble en un electrodo de pasta de carbono o sobre la superficie de un electrodo de oro o carbón

vítreo. Los electrodos obtenidos se emplean como electro – catalizador en la oxidación directa de compuestos orgánicos como la glucosa, metanol y NADH.

2. Condiciones experimentales

Las nanopartículas magnéticas se emplearon como soporte para la inmovilización de diversas enzimas, como la peroxidasa (HRP), mioglobina (Myb), alcohol oxidasa (AOD) y glucosa oxidasa (GOx). Se utilizaron además nanotubos de carbono (NTC), teflón, carbón vulcan y el líquido iónico (1-octilpyridinium hexafluorofosfato nOPPF6) como aglutinante. Para la optimización de la inmovilización fue necesario controlar diferentes factores como la proporción de ferrita (NiFe_2O_4), enzima, carbón vulcan (CV) y la técnica de mezclado que no desnaturalice a la enzima y que facilite su adsorción en la superficie de la ferrita. Los electrodos obtenidos, se emplean como electrodo de trabajo en una celda electroquímica convencional de tres electrodos, como referencia se empleó un electrodo de Ag/ AgCl, y una barra de Pt como contra-electrodo. La caracterización electroquímica se llevó cabo en un potenciostato AUTOLAB30, mediante voltametría cíclica, cronoamperometría y curvas de polarización para evaluar el potencial de oxidación de la glucosa y la densidad de corriente.

2.1 Optimización de pastas para el ensamblaje enzimático

Para esta parte se emplearon diferentes pastas, probando con varias concentraciones de ferrita, además de que se utilizaron diferentes aglutinantes, para establecer las

condiciones más óptimas. En la tabla A2 se resumen las composiciones de los diferentes electrodos que fueron empleados.

Tabla A2. Preparación de **electrodos de pasta**.

Nombre	Electródo	Preparación
A	12% ferrita - 48% NTC - 40% Teflón	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 24 mg de ferrita de níquel (NiFe_2O_4), 96 mg de nanotubos de carbono y 80 mg de teflón
B	30% ferrita – 30% carbón vulcan – 40% aceite mineral	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 60 mg de ferrita de níquel (NiFe_2O_4), 60 mg de carbon vulcan y 100 μL de aceite mineral
C	60% NTC – 40% teflón	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 120 mg de nanotubos de carbono y 80 mg de teflón
D	15% ferrita – 15% NTC – 70% LI	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 30 mg de ferrita de níquel (NiFe_2O_4), 30 mg de nanotubos de carbono y 140 mg de líquido iónico 1-octylpyridinium hexafluorophosphate 99%
E	30% NTC – 70 % LI	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 60 mg de nanotubos de carbono y 140 mg de líquido iónico 1-octylpyridinium hexafluorophosphate 99%
F	5% ferrita – 15% NTC – 80% LI	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 10 mg de ferrita de níquel (NiFe_2O_4), 30 mg de nanotubos de carbono y 160 mg de líquido iónico 1-octylpyridinium hexafluorophosphate 99%
G	Nanopartículas de Au – NTC - LI	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 60 mg de nanotubos de carbono, con 150 μL de oro coloidal, se deja en agitación magnética durante 2 horas a 4°C . Para eliminar la humedad, se deja en flujo de nitrógeno, por 2 horas, finalmente se mezclan mecánicamente 140 mg de líquido iónico 1-octylpyridinium hexafluorophosphate 99%
H	15% magnetita – 15% NTC – 70% LI	Se prepararon 200 mg de pasta, mezclando mecánicamente 30 mg de magnetita (Fe_3O_4), 30 mg de nanotubos de carbono y 140 mg de líquido iónico 1-octylpyridinium hexafluorophosphate 99%

2.1.1 Preparación de electrodos enzimáticos

Mioglobina:

Se preparon dos electrodos de pasta variando la forma de inserción de la enzima. El primer electrodo se preparó con 10% ferrita/ 20%NTC/ 70%LI en cuya superficie, perfectamente pulida se deposita una gota de 10 μ L de Myoglobin (Sigma) en una concentración 0,05 mM, se dejo secar a temperatura ambiente durante 2.5 horas. Para el segundo electrodo, la enzima se depositó en la misma pasta en la siguiente composición 10% ferrita/ 10%NTC/ 10% Myb/ 70%LI, la pasta se inserta en un tubo de teflón, con un tornillo metálico como medio de contacto.

Xantina oxidasa

Para la elaboración del biosensor enzimático, fue necesario recubrir las nanoparticulas magnéticas con silanos, para incrementar el área de contacto y la disposición de sitios activos para el depósito de las enzimas. Se dispersan 0.30 mg de NiFe_2O_4 en 1 mL de búfer de fosfatos pH 7 y se mezclaron con 400 mL de etanol, manteniendo la temperatura constante a 40 °C en un baño de aceite, se añadieron 0.375 mL de TEOS (Tetraethoxysilano 98% fluka chemik), adicionando lentamente 20 mL de amoniaco al 10% en volumen. La mezcla se mantiene en estas condiciones y con agitación constante durante 12 horas. Después de esto se separa magnéticamente y se lava con 280 ml de etanol y 280 mL de metanol. El material lavado se mezcla con 0.375 mL de APTES (3 Amino triethoxy silane 99% Aldrich). La mezcla se mantiene en atmosfera inerte con agitación

durante 12 horas. Las nanopartículas se separan magnéticamente y se lavan con etanol y metanol. Finalmente se dispersan en 10 ml de búfer de fosfatos pH 7 y glutaraldehído al 3% en volumen con agitación suave durante 2 horas, protegidas de la luz. El electrodo se preparó por deposición de dos capas, sobre la superficie perfectamente pulida de un electrodo de carbón vítreo. La primer capa fueron 10 μ L de una dispersión de 2 mg de NTC en 5 mL de Nafión al 0.1 % en agua desionizada.

La segunda capa consiste de 10 μ L de una solución que se preparó con 3.2 mg de Xantina, en 1 mL de la solución nanopartículas/ glutaraldehído, a la que se añadieron 30 μ L de NaOH y se agitó 15 minutos en un vortex, para una buena dispersión de la enzima.

Hipoxantina

Para preparar este electrodo se depositaron 10 μ L de la dispersión de NTC; posteriormente 10 μ L de la dispersión de las nanopartículas/ glutaraldehído; 10 μ L de una solución 10 mM de hipoxantina y finalmente 10 μ L de citocromo C.

Peroxidasa

Este electrodo se preparó disolviendo 1 mg de peroxidasa (HRP) en 1 mL de la dispersión nanopartículas/glutaraldehído. Se dejaron en agitación suave por media hora. Posteriormente se depositan 10 μ L de esta solución, sobre una superficie perfectamente pulida de un electrodo de carbón vítreo.

Alcohol oxidasa

Sobre un electrodo de carbón vítreo se depositan 10 μL de nanopartículas magnética/glutaraldehído. Después se depositan 10 μL de peróxido de hidrógeno. Una vez seco, se depositan 3 μL de alcohol oxidasa y finalmente se depositan 3 μL de nafión.

Glucosa Oxidasa

Este electrodo se preparó sobre la superficie de un electrodo de Au. Inicialmente se dispersaron 24 mg de ferrita de níquel en 200 μL de buffer de fosfatos pH 7, esta mezcla se mantuvo en un baño de ultrasonido durante 20 minutos. De manera independiente se dispersan 3 mg de carbón vulcan en 100 μL de buffer de fosfatos, esta solución se coloca en baño de ultrasonido durante 20 minutos para su dispersión. Posteriormente ambas dispersiones se mezclaron y se adicionaron 4.5 mg de GOx. Esta mezcla se mantiene en agitación con vortex durante 60 minutos. Después de ese tiempo, se tomó una alícuota de 50 μL de la solución, que se mezcló con 5 μL de Nafion y se agitó con vortex durante 5 minutos. Finalmente se tomó una alícuota de 10 μL de esta solución, que se depositó sobre la superficie del electrodo de Au, que se deja secar por aproximadamente 3 horas.

2.1.2 Disoluciones

Cada uno de los analitos se prepararon diluyendo el reactivo de interés en una solución buffer de fosfatos 0.05 M, ajustada a pH 7.4. Se preparó una solución 50 mM de peróxido de hidrógeno diluyendo 51.3 μL en 10 mL en la solución reguladora de buffer de fosfatos

arriba mencionada. Para el caso del NADH se preparó una solución 50 mM de β -Nicotiamide adenine dinucleotide reduced disodium salt hydrate (NADH) disolviendo 355 mg en 10 mL de la solución buffer de fosfatos.

2.1.3 Sistema electroquímico

Se empleó una celda electroquímica de tres electrodos, como electródo de referencia se utilizó un Ag/ AgCl, como electródo auxiliar, alambre de platino y como electródo de trabajo, los electrodos de pasta preparados. Que fueron evaluados mediante la técnica de amperometría. Las pruebas se realizaron en un AUTOLAB30 Potentiostat/ Galvanostat, con un volumen de trabajo de 5 mL, haciendo adiciones de 50 μ L, a distintos valores de potencial por cada análisis.

Otra técnica utilizada fue la voltametría cíclica, las pruebas se realizaron en un HCH Instruments Electrochemical Analyzer, empleando 5 mL de una solución de NADH y H_2O_2 de 10mM, con una ventana de potencial de entre -0.6 a 1.3 V, a 100 mV/s.

3. Resultados y discusión

En la figura A1 se observan las diferentes respuestas amperométricas de los distintos electrodos de pasta ante el NADH. Como se puede observar, el mejor de los ensambles es el que tiene ferrita al 15 % y Líquido iónico, que es un muy buen aglutinante, que aporta conductividad y estabilidad a la pasta, con lo cual no sólo se incrementa la respuesta, sino que además se disminuyen los ruidos y la señal es muy clara y se estabiliza rápidamente y

es aun mejor que el composite comunmente utilizado a base de nanop rticulas de oro coloidal, que además de ser costoso, requiere de una preparación minuciosa. El ensamble D (15% ferrita de níquel/ 15 % NTC/ 70 % LI), presenta señal amperométrica aun a potenciales de oxidación pequeños, pues comienza en 0.1 V y es ligeramente mayor la respuesta a la que se obtiene en el trabajo de J-M You y colaboradores^[15] quienes utilizan un ensamble de polietilendioxipirrol (PEDOP)-NTC-Pd y que obtienen una respuesta de 1.5 μA , aplicando un potencial de 0.42 V, para una concentración 10 μM de NADH, cuando en nuestro caso a esas mismas condiciones se obtiene una respuesta de 7 μA , empleando el electrodo D descrito en la tabla A1.

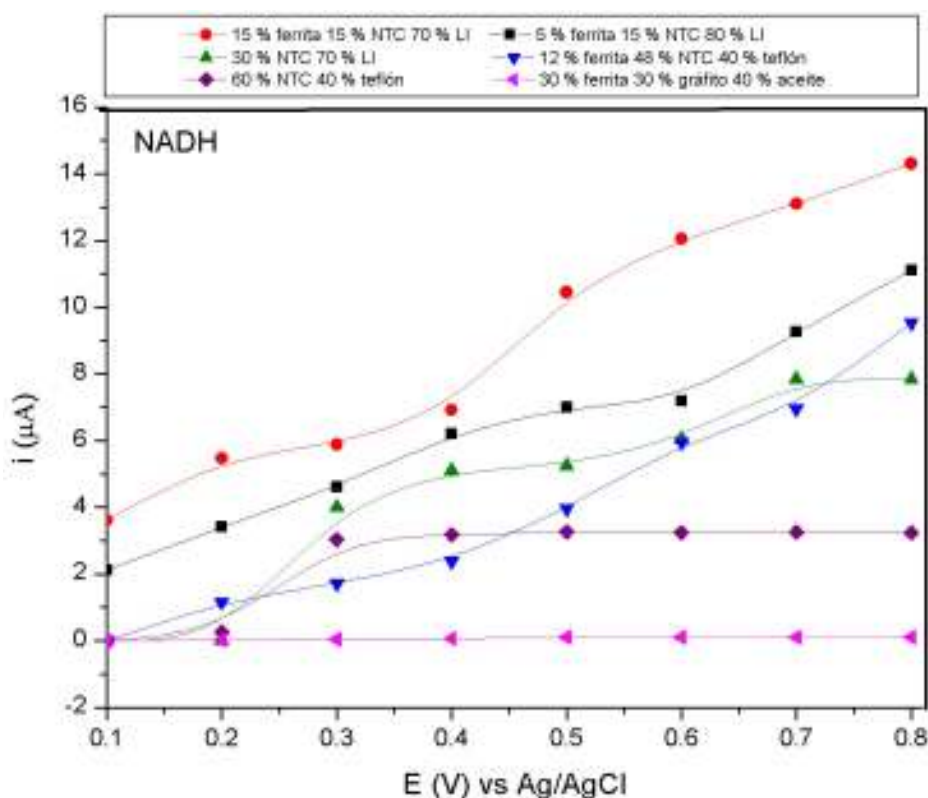


Figura A1. Amperometrías con los diferentes electrodos de pasta empleando como analito NADH

En la figura A2 se presenta la comparación entre los dos mejores ensambles, es decir los electrodos D y F descritos en la tabla A1. Es posible observar que la respuesta amperométrica al NADH se favorece cuando se incrementa la cantidad de ferrita en el electrodo, sin embargo el intervalo permisible para hacer modificaciones es muy corto, ya que la cantidad de LI no debe ser menor al 70 % para que la pasta sea estable. Un buen potencial de trabajo puede ser 0.5 V con el cual se alcanzan hasta 10 μ A.

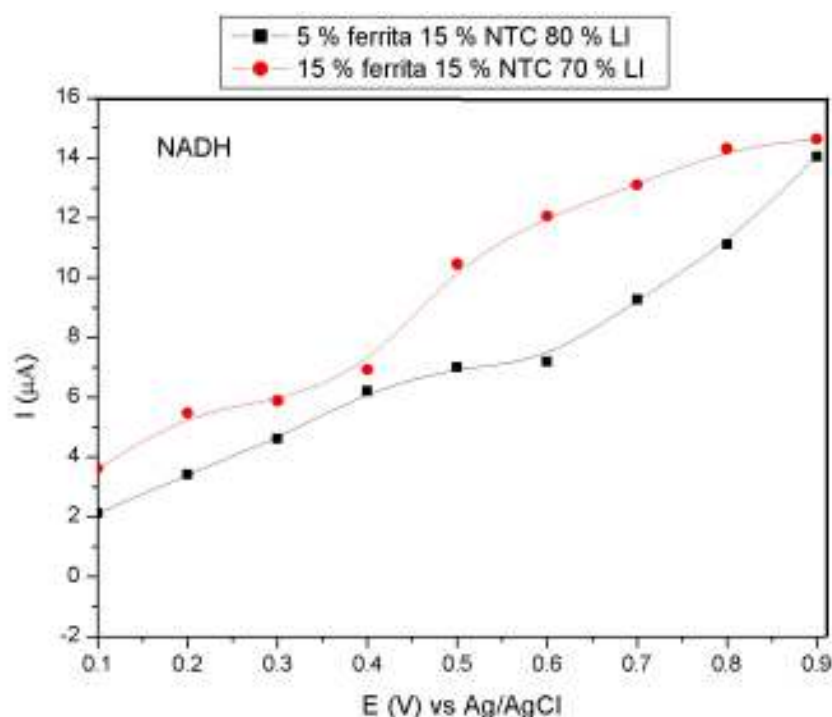


Figura A2. Amperometrías comparativas entre los electrodos de mejores resultados (D y F) empleando como analito NADH

La figura A3 muestra las voltametrías cíclicas para una concentración de 10 mM de NADH, en buffer de fosfatos, se observa el pico de oxidación del NADH alrededor de 0.5 V y no se observa un pico de reducción, los valores de corriente obtenidos son similares a los reportados por J-M You y colaboradores, para diferentes soportes de NTC-Pd y polipirrol

soportados en GCE ^[15]. El incremento de la concentración de ferrita en el electrodo favorece la respuesta del pico de oxidación y desplaza ligeramente el valor de potencial hacia valores más positivos.

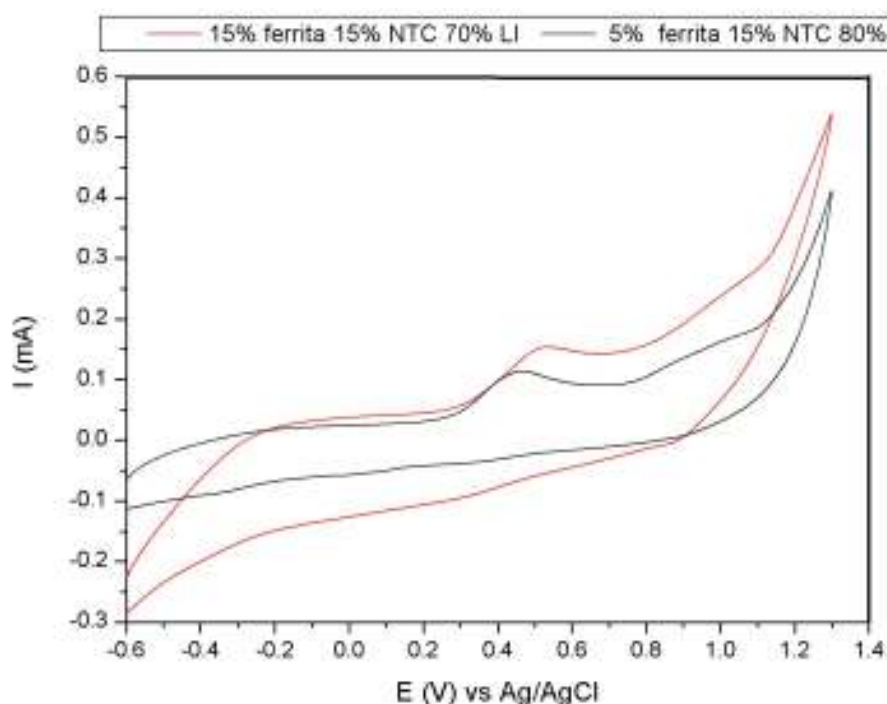


Figura A3. Voltametrías cíclicas comparativas entre los electrodos de mejores resultados (D y F) en NADH 10 mM.

En la figura A4 se presentan los resultados de las amperometrías obtenidas con los electrodos de pasta, empleando como analito el peróxido de hidrógeno H_2O_2 , en este caso las respuestas obtenidas comienzan a potenciales superiores a los 0.5 V, obteniéndose valores de corriente inferiores a los obtenidos para el caso anterior, donde el analito fue el NADH. Por lo que podemos decir que bajo las mismas condiciones de trabajo estos electrodos son más sensibles a la detección de NADH, que a la de H_2O_2 . Además no se aprecia una diferencia sustancial en la respuesta de corriente, en ninguno de los

ensambles, ni siquiera el fenómeno que se presenta en el caso del NADH, donde se incrementa la señal al aumentar la cantidad de ferrita de níquel en el electrodo.

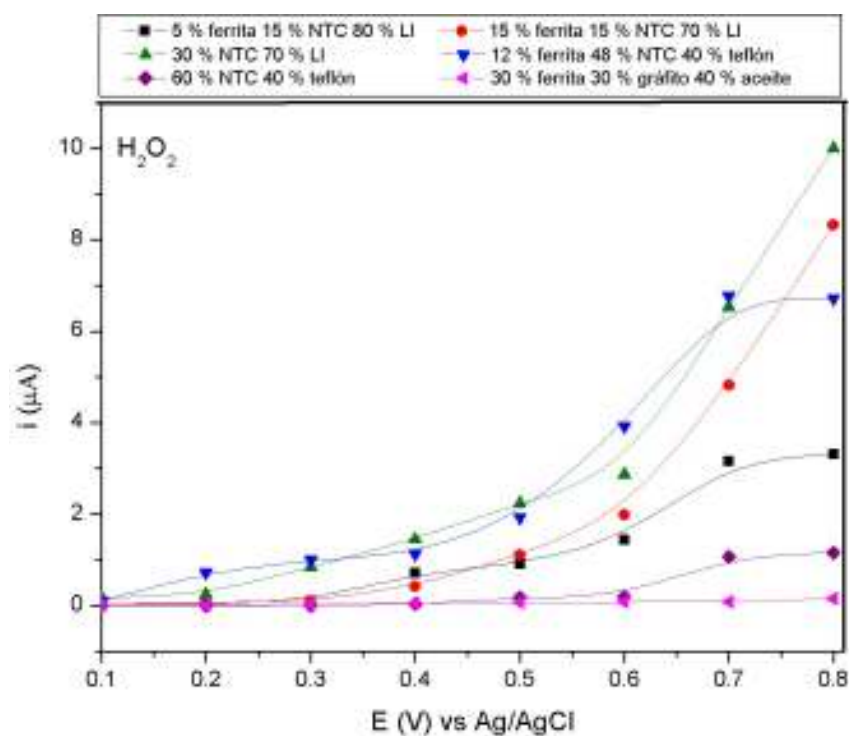


Figura A4. Amperometrías con los diferentes electrodos de pasta empleando como analito H_2O_2

En la figura A5 se muestra la absorción de la mioglobina sobre la ferrita de níquel, el electrodo utilizado consta de 10% ferrita/ 10%NTC/ 10%Myb/ 70%LI, en una solución 5mM de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ y 0.1 M KCl, a velocidades de barrido, 10, 20, 50, 100 y 200 mV/s. En la gráfica inserta se observa que la corriente aumenta linealmente cuando se aumenta la velocidad de barrido, la respuesta nos indica que la enzima se encuentra activa dentro del composito. La respuesta del sistema es lineal con la velocidad de barrido tanto en la

oxidación como en la reducción lo que indica que el proceso es controlado por transferencia de carga y no por difusión.

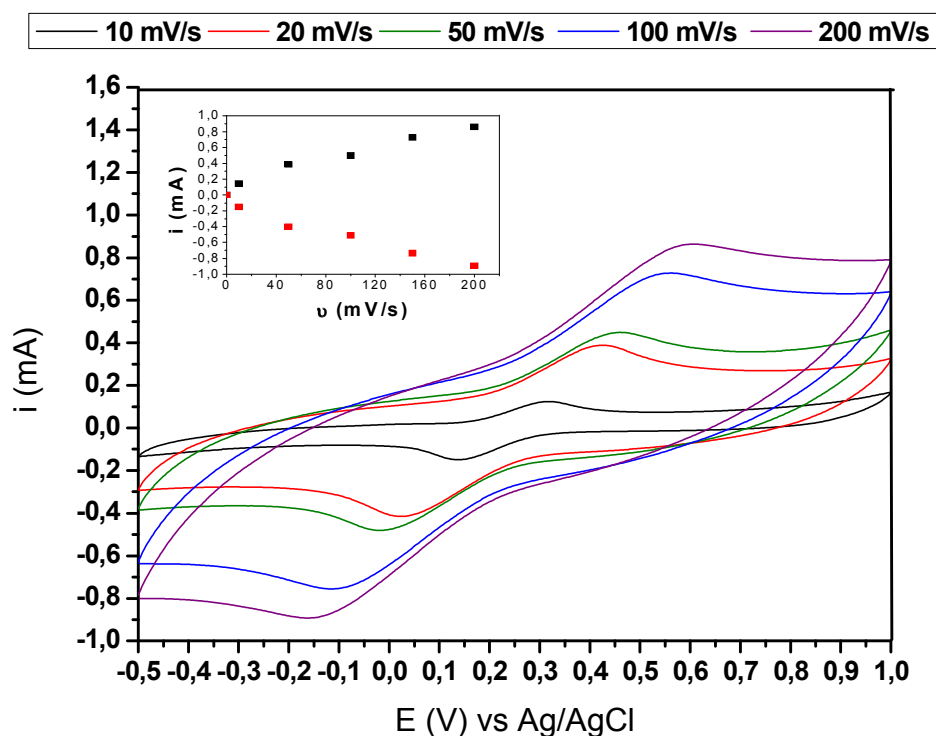


Figura A5 Voltametría cíclica electrodo 10% ferrita/ 10%NTC/ 10%Myb/ 70%LI, en una solución 5mM superior $K_3[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$ y 0.1 M KCl, a velocidades de barrido, 10, 20, 50, 100 y 200 mV/s

La figura A6, muestra los resultados para la inmovilización de la xantina, con tres electrodos diferentes a) GCE + 10 μ L NTC; b) GCE + 10 μ L NTC + 10 μ L Ferrita-Glutaraldehído y c) GCE + 10 μ L NTC + 10 μ L Ferrita-Glutaraldehído-XOD. La voltametría se realizó en una solución de xantina 10 mM en buffer de fosfatos pH 7.4 a 10 mV/s. Podemos observar que las respuestas en el caso a) y b) son muy similares, con una mayor corriente en el electrodo con la ferrita, aunque también se incrementa la resistencia del compuesto, sin embargo en el caso c) podemos observar perfectamente definido el pico de

oxidación de la xantina a causa de la presencia de la enzima inmovilizada sobre los NTC y la ferrita recubierta.

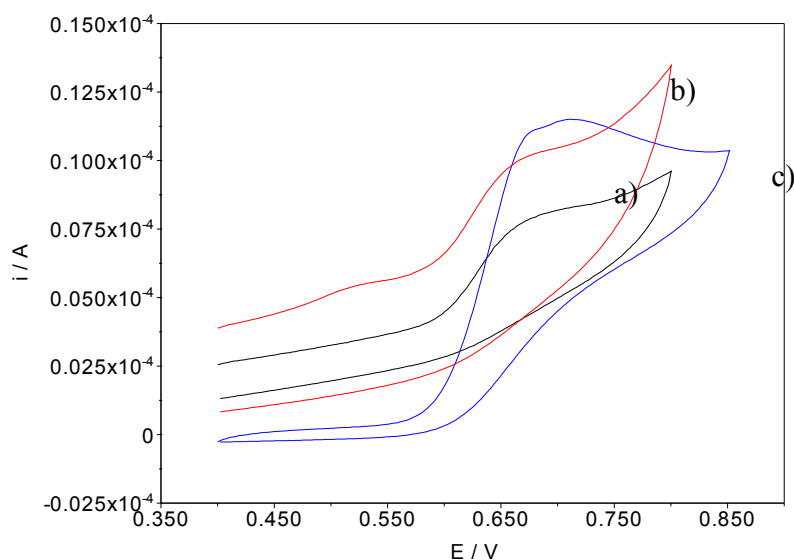


Figura A6 Voltametría cíclica de la respuesta de tres electrodos a) GCE+NTC; b) GCE+ NTC+ ferrita-glutaraldehido; c) 10% ferrita/ 10%NTC/ 10%Myb/ 70%LI, en una solución 5mM superior $K_3[Fe(CN)_6]$ / $K_3[Fe(CN)_6]$ y 0.1 M KCl, a velocidades de barrido, 10, 20, 50, 100 y 200 mV/s

En la figura A7 se corrobora la presencia de peroxidasa HRP anclada en las nanopartículas dentro del electrodo. Como blanco se hace una voltametría cíclica en una solución de hidroquinona 10mM y se observa un pico de oxidación alrededor de 0.5 V y uno de reducción a -0.12 V. Después de realizar este primer barrido, se añadieron 500 μ L peróxido de hidrógeno 10 mM. Se observa una disminución del pico de oxidación y un aumento del de reducción, por la interacción que ocurre entre la peroxidasa y el H_2O_2 . Lo cual indica la presencia de la enzima en el sistema.

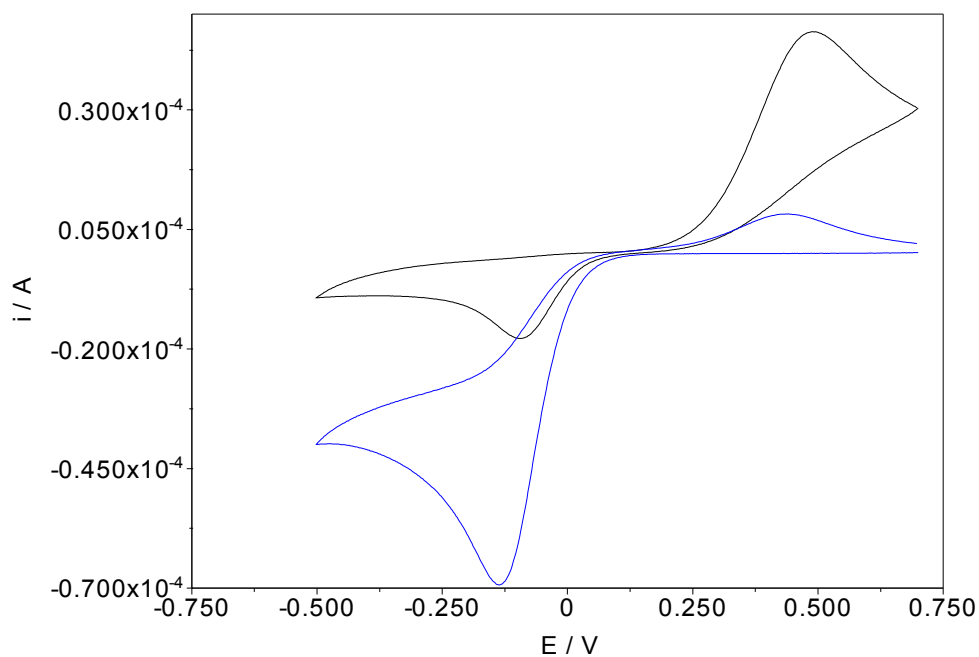


Figura A7 Respuesta del electrodo de carbon vítreo/ NiFe_2O_4 - glutaraldehído+ HRP. Solución de Hidroquinona 10 mM y 50 mV/s. y posterior presencia de H_2O_2 10 mM.

En la figura A8 se presenta el comportamiento de la enzima alcohol oxidasa (AOD), en una solución de etanol 1 y 10 mM en buffer de fosfatos a pH 7, a 10 mV/s. Al aumentar la concentración de etanol se mejora la respuesta, por la presencia de la enzima.

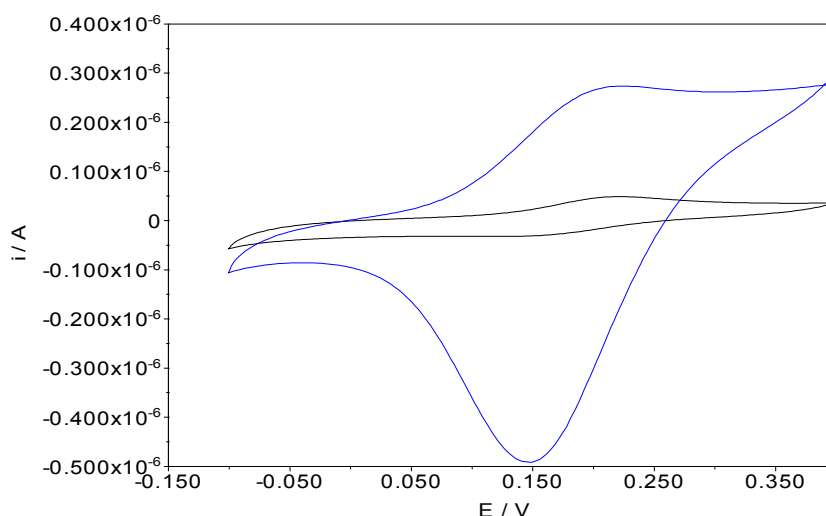


Figura A8 Electrodo de carbón vítreo modificado con ferrita de níquel, carbón vulcan y AOD, solución 1 y 10 mM de etanol en buffer de fosfatos pH 7 a 10 mV/s

Los electrodos preparados para el caso de la glucosa oxidasa se emplearon no como biosensores, sino como ánodo en una celda de combustible para la generación de energía a partir de glucosa. El sistema consiste de dos cavidades de 100 mL de volumen separados por una membrana de nafion. En un lado se colocaron 50 mL de buffer de fosfatos pH 7.4 enriquecidos con oxígeno y un cátodo que consiste en carbón vulcan/ lacasa/ nafion depositado sobre un electrodo de oro. En el otro lado del dispositivo se colocaron 50 mL de una solución de glucosa 10 mM, con burbujeo continuo de N_2 .

En la figura A9, se presentan la curva de descarga de la optimización de la técnica de inmovilización de la encima, sobre la ferrita y el carbon vulcan, pues se pretendía que a diferencia de los casos anteriores, se hiciera un depósito único y no varios ensambles, para disminuir la resistencia del sistema, con la finalidad de posteriormente, hacer el depósito en un microcanal de una celda de combustible de microfluidos, similar a la que

se utilizó en el capítulo 5. De la figura A9, es posible determinar que el sistema alcanza un potencial de 0.42 V y aporta una densidad de potencia de 0.04 mW cm^{-2} . Estos valores están ligeramente por debajo de lo esperado, sin embargo sirven de antecedente para el desarrollo de ánodos con base en ferritas de níquel. La inmovilización enzimática es un área en continuo desarrollo y que por la naturaleza de la enzima varía en cada caso. En este anexo solo se exponen los resultados parciales de la inmovilización de enzimas sobre ferritas de níquel, con distintas metodologías de anclaje, siendo un campo donde la investigación solo acaba de empezar. Una vez encontrada la mejor enzima y su mejor forma de inmovilización habría que trabajar tanto en el ánodo como en el cátodo de una biopila para obtener mejores resultados en cuanto a potencial y corriente suministrada por la misma.

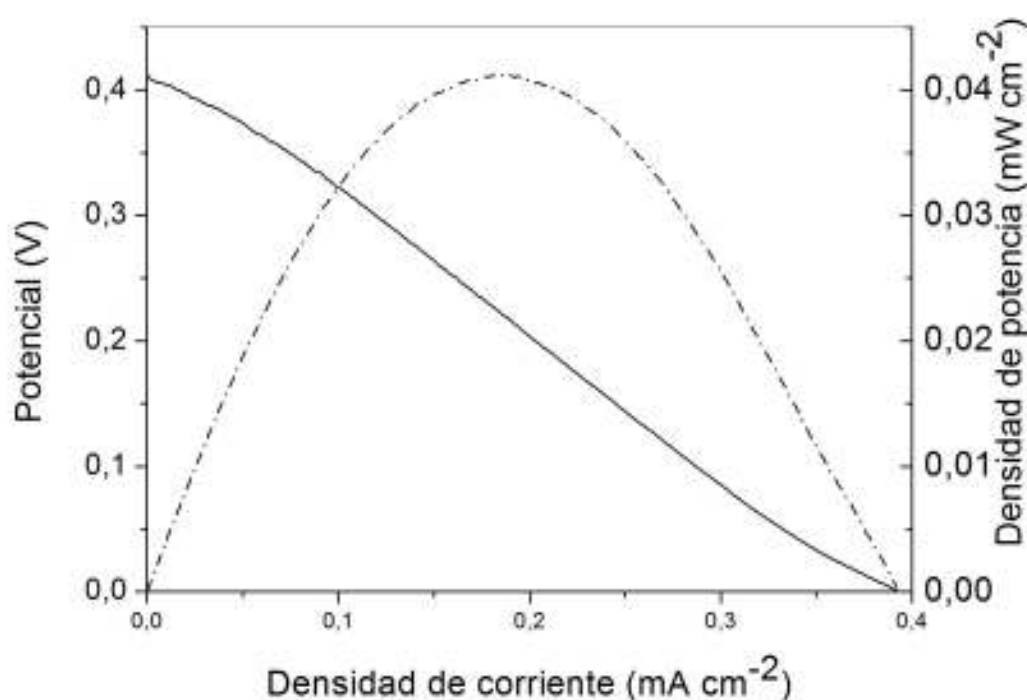


Figura A9. Curva de descarga en una biopila de glucosa. Ánodo: Au/Ferrita/Carbón vulcan/ GOx/ nafion.

Cátodo: Au/Carbon vucan/lacasa/ nafion.

4. Conclusiones parciales.

- En base a estos resultados es posible pensar en el desarrollo de sensores aplicando las metodologías de inmovilización que aquí se presentan.
- Se demuestra que las ferritas de níquel son un material biocompatible con varias enzimas, que permite inmovilizar una gran cantidad de ellas sobre la superficie.
- Las nanopartículas resultan ser un buen soporte, que brinda estabilidad a las enzimas y que además incrementan la actividad catalítica de estos sistemas y la detección de los analitos de interés.

5. Referencias

- [1] Li J., Yuan R., Chai Y., *Microchim Acta*, **173**, (2011) 369 – 374.
- [2] A. Sassolas, L. J. Blum, B. D. Leca-Bouvier., *Biotech. Advan.*, **30** (2012) 489–511.
- [3] Luo L., Li Q., Xu Y., Ding Y., Wang X., Deng D., Xu Y., *Sensors and Actuators B*, **145**, (2010), 293 – 298.
- [4] J. Pingarron, P. Yanez-Sedeno, A. Gonzalez-Cortes., *Electrochim Acta*, **53** (2008) 5848–5866.
- [5] M. Ammam, E. B. Easton, *Sensors and Actuators B*, **155**, (2011), 340 – 346.
- [6] S. A. Ansari, Q. Husain, *Biotechnology Advances*, **30**, (2012), 512 – 523.
- [7] Kouassi GK, Irudayaraj J, McCarty G. J *Nanobiotech.*, **3** (2005) 1–9.
- [8] SH Huang, MH Liao, DH Chen. *Biotechnol Prog.*, **19** (2003) 1095–100.
- [9] NA Kalkan, EA Aksoy, S Aksoy, N Hasirci. Abstract no. 605, published in Nano. Conf; (2009).
- [10] R. Konwarh, N. Karak, SK. Rai, AK. Mukherjee. *Nanotechnology* **20** (2009) 225–235.
- [11] H. J. Park, J. T. McConnell, S. Boddohi, M. J. Kipper, P. A. Johnson., *Colloids Surf. B: Biointerfaces* **83** (2011) 198–203.
- [12] H. Wang, J. Huang, C. Wang, D. Li, L. Ding, Y. Han., *Appl. Surf. Scienc.* **257** (2011) 5739–5745
- [13] J. Huang, R. Zhao, H. Wang, W. Zhao, L. Ding, *Biotechnol Lett*, **32** (2010) 817–821
- [14] Y. Zhuo, P-X Yuan, R. Yuan, Y-Q Chai, C-L Hong., *Biomaterials* **30** (2009) 2284–2290
- [15] A. Zebda, L. Renaud, M. Cretin, F. Pichot, C. Innocent, R. Ferrigno, S. Tingry, *Electrochem. Comm.* **11** (2009) 592–595

- [16] A. Zebda, L. Renaud, M. Cretin, C. Innocent, F. Pichot, R. Ferrigno, S. Tingry, J. Power
Sources **193** (2009) 602–606

TRABAJO A FUTURO

Trabajo a futuro

A continuación se indican algunas de las actividades que pueden desarrollarse a partir de esta tesis. Algunas son complementarias al trabajo aquí expuesto y otras se refieren a nuevas líneas que con base en los resultados de este trabajo pueden iniciarse.

- Identificar cada una de las variables que afectan en las cuatro rutas de síntesis aquí expuestas, optimizarlos para lograr las mejores condiciones de trabajo en cada caso.
- Evaluar la actividad y estabilidad de la Glucosa Oxidasa para establecer las condiciones más adecuadas para su manejo.
- Mejorar la técnica de inmovilización de la GOx sobre la ferrita de níquel y la magnetita. Intentar la inmovilización covalente, electrodeposición, auto-inmovilización, etc.
- Ampliar el estudio a la realización de otros biosensores empleando diferentes enzimas.
- Comparar la respuesta analítica de sensores de glucosa, preparados con diferentes materiales magnéticos (maghemita, , magnetita, ferrita de níquel otras ferritas.
- Elaborar un ánodo con ferrita de níquel para una celda de microfluídos con las características y a las condiciones expuestas en esta tesis, para la maghemita.
- Realizar ensayos similares con el cátodo, para sustituir el Pt por nanopartículas magnéticas y/o una dupla enzimática GOx con otra enzima como la Lacasa.
- Optimizar las condiciones de diseño y operación de la celda de microfluídos.

